

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE VETERINARIA**

Departamento de Producción Animal



**UTILIZACIÓN DE ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO EN
ALIMENTACIÓN PORCINA
MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR**

Gustavo Cordero González

Bajo la dirección de los doctores
Clemente López-Bote
Beatriz Isabel Redondo
David Menoyo Luque

Madrid, 2011

ISBN: 978-84-694-9659-6

©Gustavo Cordero González, 2011

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE VETERINARIA

Departamento de Producción Animal



**UTILIZACIÓN DE ÁCIDO LINOLEICO
CONJUGADO EN ALIMENTACIÓN PORCINA**

**TESIS DOCTORAL PRESENTADA POR
GUSTAVO CORDERO GONZÁLEZ
MADRID, 2010**

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

Facultad de Veterinaria

**UTILIZACIÓN DE ÁCIDO LINOLEICO
CONJUGADO EN ALIMENTACIÓN
PORCINA**

Tesis Doctoral presentada por

GUSTAVO CORDERO GONZÁLEZ

**PARA LA OBTENCIÓN DEL GRADO DE DOCTOR EN
VETERINARIA**

**Bajo la dirección de DR. CLEMENTE LÓPEZ-BOTE, DRA.
BEATRIZ ISABEL REDONDO Y DR. DAVID MENOYO LUQUE**

FDO. GUSTAVO CORDERO GONZÁLEZ

MADRID, 2010

D. CLEMENTE JOSÉ LÓPEZ BOTE, CATEDRÁTICO DE NUTRICIÓN Y ALIMENTACIÓN ANIMAL DE LA FACULTAD DE VETERINARIA DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID, DÑA. BEATRIZ ISABEL REDONDO, PROFESORA AYUDANTE DOCTOR DE NUTRICIÓN Y ALIMENTACIÓN ANIMAL DE LA FACULTAD DE VETERINARIA DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID Y D. DAVID MENOYO LUQUE, PROFESOR TITULAR DE PRODUCCIÓN ANIMAL DE LA ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS AGRÓNOMOS DE LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE MADRID.

CERTIFICAN:

Que la Tesis Doctoral titulada: “Utilización de ácido linoleico conjugado en alimentación porcina”, de la que es autor el Licenciado en Veterinaria D. Gustavo Cordero González, ha sido realizada en el Departamento de Producción Animal, bajo la dirección conjunta de los que suscriben y cumple las condiciones exigidas para obtener el título de Doctor en Veterinaria.

VºBº Los Directores

Fdo: D. Clemente J. López Bote

Fdo: Dña. Beatriz Isabel Redondo

Fdo: D. David Menoyo Luque

Madrid 16 de Noviembre de 2010

La presente Tesis se ha realizado mediante una Beca de Formación de Profesorado Universitario (FPU) concedida por el Ministerio de Educación y Ciencia. Los trabajos experimentales y analíticos se han financiado parcialmente por los proyectos CICYT AGL2007-63655 y ADE (04/05/SG/0008) del Gobierno Regional de Castilla-León.

AGRADECIMIENTOS

En la realización de esta Tesis Doctoral debo agradecer en mi primer lugar a los directores de esta tesis, Dr. Clemente J. López Bote, Dra. Beatriz Isabel Redondo y Dr. David Menoyo Luque, por haberme dado la oportunidad de realizar esta Tesis Doctoral en el Departamento de Producción Animal de la Facultad de Veterinaria de Madrid.

También me gustaría extender mi agradecimiento a mis padres y hermana por apoyarme en todo momento, por respetar mis decisiones y sus esfuerzos realizados para que yo haya podido llegar hasta aquí.

I want to thank Dr. Peter Theil the great experience at Research Centre Foulum (Denmark). Thank you for the long discussions of statistics and for giving me the opportunity to collaborate in one of the articles. Thank you very much for your dedication and everything I learned during that time.

I want to thank Angela's frozen hands for their help with samples.

Al Doctor y recientemente nombrado catedrático Argimiro Daza por su apoyo, comprensión y su vocación docente.

A Carlos Piñeiro, Joaquín Morales y todos los trabajadores de la empresa PigCHAMP, Pro Europa por su amabilidad y ayuda en los trabajos experimentales. Agradecimientos también a toda la gente que ha participado en la toma de muestras en el matadero.

Gracias a todo el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular IV de la Facultad de Veterinaria de Madrid y al Departamento de Producción Animal Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, por dejarme utilizar sus laboratorios para la realización de parte de esta tesis doctoral. Gracias por vuestra ayuda, consejos y sobre todo por indicarme donde podía encontrar todos los reactivos.

Al resto de doctorandos de laboratorio con los que he compartido los buenos y los malos momentos. Gracias por los momentos compartidos y el apoyo moral recibido. Gracias también a todo el personal laboral del Departamento, en especial a M^a Pilar Ciria por su ayuda en el laboratorio y sus consejos de “madre” para orientar nuestra situación laboral.

A todos aquellos que por descuido involuntario haya podido olvidar, también quiero expresar mi agradecimiento.

A mi novia y sus padres por creer en este “cerebrita” y animarme especialmente en el duro y estresante tramo final de la tesis.

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	7
2.1. LÍPIDOS. CARACTERÍSTICAS GENERALES	7
2.2. ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO (CLA)	11
2.2.1. ESTRUCTURA Y ORIGEN DEL CLA	11
2.2.2. FUENTES DE CLA.....	14
2.2.3. MECANISMO DE ACCIÓN DEL CLA.....	16
2.2.3.1. Mecanismos de regulación de la grasa corporal por el CLA.....	16
2.2.3.1.1. <u>Incremento del gasto energético</u>	17
2.2.3.1.2. <u>Modulación del metabolismo de los adipocitos</u>	18
2.2.3.1.3. <u>Regulación de la síntesis y catabolismo de los ácidos grasos</u>	22
2.2.3.1.4. <u>Modulación de Eicosanoides</u>	26
2.2.4. INTERÉS DEL CLA EN LA ALIMENTACIÓN	27
2.2.4.1. El CLA como alimento funcional	28
2.2.4.2. Composición, concentración y dosis de CLA	30
2.2.4.3. Efecto sobre la salud: anticarcinogénico, hipocolesterolémico y antiteratogénico. Relación con el sistema inmune.	32
2.2.4.4. Efecto del CLA sobre la composición corporal.....	35
2.2.4.5. Cantidad de grasa intramuscular y su relación con la incorporación de CLA en la ración	38
2.2.4.6. Efecto del CLA en la composición de ácidos grasos de los tejidos animales	41
2.2.5. UTILIZACIÓN DE CLA EN CERDAS REPRODUCTORAS	43
2.2.5.1. Lactación: Características principales.....	43
2.2.5.2. Componentes de la leche materna	44
2.2.5.3. Composición de Calostro.....	46
2.2.5.4. CLA en calostro y leche	49
2.3. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
3. PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS.....	75

4. TRABAJO EXPERIMENTAL 1	80
4.1. RESUMEN	80
4.2. MATERIAL Y MÉTODOS	80
4.2.1. Animales y dietas	80
4.2.2. Toma de muestras y análisis químico	81
4.2.3. Análisis estadístico	81
4.3. RESULTADOS	82
4.4. TABLAS Y FIGURAS TRABAJO EXPERIMENTAL 1	84
 5. TRABAJO EXPERIMENTAL 2	 94
5.1. RESUMEN	94
5.2. MATERIAL Y MÉTODOS	94
5.2.1. Animales y dietas	94
5.2.2. Toma de muestras y análisis químico	95
5.2.3. Ensayos enzimáticos	96
5.2.4. Análisis estadístico	96
5.3. RESULTADOS	96
5.4. TABLAS TRABAJO EXPERIMENTAL 2	99
 6. TRABAJO EXPERIMENTAL 3	 108
6.1. RESUMEN	108
6.2. MATERIAL Y MÉTODOS	109
6.2.1. Animales y dietas experimentales	109
6.2.2. Mediciones y toma de muestras	110
6.2.3. Análisis de muestras	111
6.2.4. Análisis estadístico	111
6.3. RESULTADOS	112
6.4. TABLAS TRABAJO EXPERIMENTAL 3	113

7. TRABAJO EXPERIMENTAL 4	122
7.1. RESUMEN	122
7.2. MATERIAL Y MÉTODOS	123
7.2.1. Animales y dietas experimentales	123
7.2.2. Mediciones y toma de muestras	124
7.2.3. Análisis químicos	125
7.2.4. Análisis enzimáticos	125
7.2.5. Análisis estadístico	126
7.3. RESULTADOS	126
7.4. TABLAS TRABAJO EXPERIMENTAL 4	128
8. DISCUSIÓN GENERAL	137
8.1. PARÁMETROS ZOOTÉCNICOS	137
8.1.1. <i>Madres</i>	137
8.1.2. <i>Lechones destetados</i>	139
8.1.3. <i>Cerdos en fase de cebo</i>	140
8.2. COMPOSICIÓN DEL CALOSTRO Y DE LA LECHE MATERNA	141
8.3. MODIFICACIÓN DEL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS	143
8.3.1. <i>Tejido subcutáneo</i>	143
8.3.2. <i>Tejido muscular</i>	148
8.4. CONTENIDO DE GRASA INTRAMUSCULAR	150
8.5. ACTIVIDAD ENZIMÁTICA	151
8.6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	154
9. CONCLUSIONES	163

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS DE LA REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Tabla 1. Nomenclatura y fuentes de AG. Modificada de Calder y Field (2002).....	10
Tabla 2. Contenido de CLA en los alimentos (modificada a partir de Chin <i>et al.</i> , 1992)	15
Tabla 3. Estimación del consumo diario de CLA ante la ingestión de alimentos convencionales o naturalmente enriquecidos en CLA	30
Tabla 4. Resumen de experimentos en cerdos que utilizan CLA.....	31
Tabla 5. Principales efectos biológicos atribuidos al CLA (modificado de Pariza, 2004)	32
Tabla 6. Efecto de la inclusión del CLA en pienso sobre la ganancia media diaria, ingestión media diaria de alimento e índice de conversión expresado en cada caso en porcentaje respecto al grupo testigo son CLA.....	37
Tabla 7. Efecto de las diversas dosis de CLA utilizadas sobre los parámetros de calidad de la carne del cerdo	39
Tabla 8. Evolución de la producción de leche de cerdas cruzadas (Daza <i>et al.</i> , 1999). 44	
Tabla 9. Composición química media (por 100 g) de la leche de cabra, oveja, vaca cerda y humana (modificada Edelsten, 1988)	45
Tabla 10. Diferencias en la composición de nutrientes en el calostro y en la leche de la especie porcina (g/kg) (Darragagh A.J. y Moughan P.J., 1998)	47
Tabla 11. Distribución del contenido de proteína en el calostro y en la leche de la especie porcina (expresado como porcentaje de la proteína total)	48
Tabla 12. Contenido de vitaminas y minerales en el calostro y en la leche de la especie porcina	48
Tabla 13. Contenido en ácidos grasos de la leche de distintas especies animales (modificada Edelsten, 1988).....	49
Figura 1. Configuración <i>cis</i> o <i>trans</i> de los ácidos grasos	8
Figura 2. Estructura de enlaces del CLA (Stryer, 1988)	11
Figura 3. Efecto del CLA en el desarrollo de tumores mamarios en ratas tras la administración de dimetilbenzantraceno (Ip <i>et al.</i> , 1991)	12
Figura 4. Vías de hidrogenación del ácido linoleico en el rumen y en los tejidos (Griinari y Bauman, 1999)	14

Figura 5. Porcentaje de grasa intramuscular en animales alimentados con distinto contenido de CLA en un pienso para ganado porcino (Joo <i>et al.</i> , 2002)	41
Figura 6. Efecto de la concentración de CLA (5% en el pienso) en la composición de ácidos grasos de la grasa intramuscular de cerdos desde los 77 hasta los 105kg de peso vivo (Joo <i>et al.</i> , 2002).....	43

TABLAS Y FIGURAS TRABAJO EXPERIMENTAL 1

Tabla 1. Ingredientes, composición química analizada y composición de ácidos grasos de los piensos experimentales.....	84
Tabla 2. Características de la canal de los animales experimentales de acuerdo con los niveles de CLA en el pienso.	85
Tabla 3. Perfil de ácidos grasos (% total de ácidos grasos) de la grasa dorsal subcutánea de acuerdo con los niveles de CLA el pienso.	86
Tabla 4. Perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular del <i>Longissimus dorsi</i> (% total de ácidos grasos) de acuerdo con los niveles de CLA en el pienso.	87
 Figura 1. Doble pendiente broken-line para el contenido de C18:1n-9/C18:0 en la grasa dorsal subcutánea (SC) (línea continua) y en la grasa del músculo Longissimus dorsi (IM) (línea discontinua) de acuerdo a la concentración de CLA en el pienso y los valores medios observados para cada tratamiento (n = 10 por tratamiento).	88
Figura 2. Respuesta lineal entre la concentración de c9,t11-CLA (línea discontinua) y de t10,c12-CLA (línea continua) respecto al nivel de CLA administrado en el pienso sobre el tejido subcutáneo (SC), (●), (○) e intramuscular (IM), (■), (□), correspondiente a los valores actuales analizados para el tejido subcutáneo e intramuscular, respectivamente.	89

TABLAS TRABAJO EXPERIMENTAL 2

Tabla 1. Ingredientes (%), composición química analizada (%) y composición de ácidos grasos (%) de los piensos experimentales.	99
Tabla 2. Efecto de la incorporación de CLA en el pienso y el sexo sobre las características de la canal.	100
Tabla 3. Perfil de ácidos grasos (%) de la grasa dorsal subcutánea de acuerdo con los niveles de CLA en el pienso y el sexo.	101
Tabla 4. Perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular del Longissimus dorsi (%) de acuerdo con los niveles de CLA en el pienso y el sexo.	102
Tabla 5. Influencia de la incorporación de CLA en el pienso y del sexo sobre la actividad de las enzimas G6PD y ME (IU mg-1 de proteína soluble) en el hígado.	103

TABLAS TRABAJO EXPERIMENTAL 3

Tabla 1. Ingredientes (g/kg de pienso), análisis calculado (%) y composición química (%) de los piensos experimentales.	113
Tabla 2. Influencia del pienso enriquecido con ácido linoleico conjugado (CLA) sobre el consumo de alimento, peso corporal, espesor de grasa dorsal y condición corporal de las cerdas y sobre el número de lechones vivos de nacimiento, los lechones destetados, la mortalidad y el rendimiento de los lechones destetados a lo largo de la lactación de 28 días (n = 17 cerdas por tratamiento) ¹	114
Tabla 3. Influencia del pienso enriquecido con ácido linoleico conjugado (CLA) sobre la grasa del calostro (%) y la composición de ácidos grasos (%) (n = 17 cerdas por tratamiento).	115
Tabla 4. Influencia del pienso enriquecido con ácido linoleico conjugado (CLA) sobre la grasa de la leche (%) y la composición de ácidos grasos (%) (n = 17 cerdas por tratamiento).	116
Tabla 5. Influencia de la utilización de CLA en el pienso de cerdas gestantes/lactantes y/o después del destete sobre el peso de los lechones (kg), ganancia diaria de peso (ADG, g), consumo de alimento diario (ADFI, g) y eficiencia alimenticia (Ganancia: Consumo, G: F) desde el destete (28 días) a los 63 días de vida. (n = 24 lechones por tratamiento).	117

TABLAS TRABAJO EXPERIMENTAL 4

Tabla 1. Ingredientes (g/kg de pienso), análisis calculado (%) y composición química (%) de los piensos experimentales.....	128
Tabla 2. Composición química (%) de la leche perteneciente a las cerdas alimentadas con un pienso control (S-CT) o un pienso enriquecido en CLA (S-CLA).	129
Tabla 3. Influencia de la incorporación de ácido linoleico conjugado (CLA) en la alimentación de las cerdas sobre la actividad enzimática en grasa, hígado y corazón (IU mg-1 de proteína soluble) de los lechones al destete (28 días de vida).....	130
Tabla 4. Influencia de la incorporación de ácido linoleico conjugado (CLA) en la alimentación de las cerdas sobre el contenido de grasa hepática, la composición de ácidos grasos de la grasa dorsal subcutánea y el hígado (%) de los lechones al destete (28 días de vida).	131
Tabla 5. Efecto de la incorporación de ácido linoleico conjugado (CLA) en la alimentación de las cerdas, durante la lactación, y de los lechones, (CLA-CLA) desde los 0 a los 63 días de edad, o a los lechones en el período posterior al destete (CT-CLA), desde los 28 a los 63 días de edad sobre la actividad enzimática en grasa, hígado y corazón (IU mg-1 de proteína soluble) de los lechones.	131
Tabla 6. Efecto de la incorporación de ácido linoleico conjugado (CLA) en la alimentación de a las cerdas durante la lactación y a los lechones (CLA-CLA) desde los 0 a los 63 días de edad, o a los lechones en el período posterior al destete (CT-CLA), desde los 28 a los 63 días de edad sobre el contenido de grasa hepática, la composición de ácidos grasos de la grasa dorsal subcutánea y el hígado (%) de los lechones.	133

FIGURAS DE LA DISCUSIÓN GENERAL

Figura 1. Espesor de grasa dorsal en las cerdas según el nivel incluido de CLA en la dieta (○ Cerdas que reciben CLA en el pienso; □ Cerdas que reciben pienso control).	138
Figura 2. Relación de grasa en el calostro (○) y la leche (Δ) con el nivel de CLA incluido en la dieta de las cerdas (experimento 3).	141
Figura 3. Concentración (%) de los AGS (▲), AGMI (●) y AGPI (■) en el calostro, según el nivel de CLA incluido en la dieta (%) (experimento 3).	142
Figura 4. Concentración (%) de los AGS (▲), AGMI (●) y AGPI (■) en la leche, según el nivel de CLA incluido en la dieta (%) (experimento 3).	143
Figura 5. Concentración (%) de los los AGS (▲), AGMI (●) y AGPI (■) en la grasa subcutánea de cerdos blancos, según el nivel de CLA incluido en la dieta (%) (experimento 1).	144
Figura 6. Concentración (%) de los AGS (▲), AGMI (●) y AGPI (■) en la grasa subcutánea de cerdos ibéricos x Duroc del experimento 2 según el nivel de CLA incluido en la dieta (experimento 2).	145
Figura 7. Concentración (%) de los AGS (▲), AGMI (●) y AGPI (■) en la grasa subcutánea de los lechones destetados (28 d de vida) según el nivel de CLA incluido en la dieta (experimento 4).	146
Figura 8. Efecto de la administración de una dieta enriquecida con CLA durante la lactación y el postdestete (CLA-CLA, ▲), o solo en el periodo de postdestete (CT-CLA, ●, línea discontinua), sobre la concentración de los ácidos grasos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI) y poliinsaturados (AGPI) en lechones lactantes (28 d) y lechones destetados (63 d) en la grasa subcutánea (□, grupo control, CT-CT) (experimento 4).	147
Figura 9. Relación de grasa intramuscular con el nivel de CLA incluido en la dieta en cerdos blancos (○) e ibéricos (□) (experimentos 1 y 2).	151
Figura 10. Efecto de la administración de una dieta enriquecida con CLA durante la lactación y el postdestete (CLA-CLA, ▲), o solo en el periodo de postdestete (CT-CLA, ●, línea discontinua), sobre la actividad enzimática del tejido subcutáneo en lechones lactantes (28 d) y lechones destetados (63 d) (□, grupo control, CT-CT) (experimento 4).	153

PRINCIPALES ABREVIATURAS UTILIZADAS

AA	Ácido araquidónico
AG	Ácidos grasos
AGMI	Ácidos grasos monoinsaturados
AGPI	Ácidos grasos poliinsaturados
AGS	Ácidos grasos saturados
<i>c</i>	<i>cis</i>
CLA	Ácido linoleico conjugado
DHA	Ácido docosahexanoico
EM	Enzima málico
EPA	Ácido eicosapentanoico
G6PD	Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa
GIM	Grasa intramuscular
Ig	Inmunoglobulina
L	Lineal
L3HOAD	L3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa
M	Molar
MJ	Megajulio
NE	Energía neta
PPAR	Receptores activados por proliferadores de peroxisomas
Q	Cuadrática
RAR	Receptor de ácido retinoico
RMSE	Raíz cuadrada del cuadrado medio del error
SCD	Estearoil- CoA desaturasa
SEM	Error estándar de la media
<i>t</i>	<i>trans</i>

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

El porcino constituye con gran diferencia el primer sector de la ganadería española con una producción de más de 4.000 millones de euros al año, más del 40% de la producción ganadera, que a su vez supone alrededor del 40% de la producción agraria, que representa en conjunto el 2,6% del PIB. Según el Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino (MARM), dentro de la Unión Europea, España es el segundo país en cuanto a la producción de carne de porcino (38.794 miles de cabezas), con un 17% del censo y un 15,4% de la producción. Individualmente España es la cuarta potencia productora del mundo (después de China, EEUU y Alemania).

La gran magnitud de estas cifras, no reflejan realmente la importancia del sector porcino español. La carne de cerdo es la base de la industria cárnica española, ya que existe una amplia tradición histórica de procesado y transformación. Para observar la realidad del sector porcino desde el punto de vista de la industria cárnica es preciso tener en cuenta en primer lugar que el sector de la alimentación representa el 17% del PIB industrial y un 7% del PIB. La industria agroalimentaria española es la quinta de la Unión Europea, tras Francia, Alemania, Italia y Reino Unido. Esta industria, que cuenta con 32.000 empresas y medio millón de empleados directos, exporta por valor de 13.000 millones de euros (uno de los principales sectores exportadores superado sólo por el sector del automóvil), y 80.000 millones de euros de ventas netas. Se trata por tanto del sector industrial más importante en España. A ello hay que añadir que es uno de los sectores que mejor está afrontando la actual situación económica de crisis. La industria cárnica cuenta con 85.625 ocupados, el 22,4% del total de la industria alimentaria y sus ventas ascienden a casi 16.000 millones de euros, el 20,2% de la facturación de la industria alimentaria española. La importancia del sector porcino en la industria cárnica se pone de manifiesto si se tiene en cuenta que la producción de carne en 2009 fue de un 6% menos que en 2008, es decir ascendió a casi unas 5,31 millones de toneladas, de las cuales algo más del 60% correspondieron al porcino. Por otra parte, del total de la producción de carne de cerdo, aproximadamente el 50% se transforma. Finalmente, es preciso recordar que la magnitud real de la importancia de la industria alimentaria (y de derivados del porcino en particular) sobrepasa cualquier cifra, por importante que esta sea, ya que se vincula directamente a la gastronomía y cultura de los pueblos y regiones de España y por tanto a la restauración y al turismo. Según un estudio publicado recientemente por la FIAB, al preguntar a los visitantes extranjeros por los factores que

caracterizan a España, lo primero que indican es el turismo (incluyendo el clima y geografía) y lo segundo la gastronomía/alimentación.

Todo ello constituye una base firme para considerar este sector como estratégico tanto en el momento presente como en el futuro, particularmente en lo referente a la obtención de productos diferenciados y de calidad, debido a su profunda relación con el sector industrial.

Por otra parte, el desarrollo técnico del sector porcino español en las últimas décadas hace que sea cada vez más competitivo a nivel internacional. La expansión y desarrollo de las exportaciones españolas de productos del cerdo está alcanzando una dimensión e importancia económica notable. En 2009 se ha exportado el 38% de la producción porcina, frente al 29% en 2007 y un 35% en el 2008. Aproximadamente las dos terceras partes de estas exportaciones corresponden a productos cárnicos. La balanza comercial de la carne obtuvo un superávit de 1.044 millones de euros en este periodo, un incremento interanual del 1,2%, hecho realmente sobresaliente en el contexto económico en que nos encontramos que indica con claridad el potencial del sector.

En relación con las exportaciones españolas a países de fuera de la Unión Europea, han caído de forma rotunda respecto a 2008, si bien hay que tener en cuenta que 2008 fue un año de exportaciones record en el que las carnes se vieron apoyadas por las restituciones a la exportación. Las exportaciones de carnes de porcino han conseguido cerrar el año con un ligero avance respecto a 2008, superando las 850.000 toneladas, y los elaborados (jamones curados, embutidos y fiambres) han mantenido prácticamente sus volúmenes, notándose, sin embargo, un incremento en las exportaciones de los embutidos cocidos, sobre todo en los últimos meses de 2009, gracias a nuevos mercados con creciente importancia, como China, Brasil, Singapur, Vietnam, Serbia, Liberia, Macedonia. Entre los nuevos destinos, cabe destacar a China, ya que en el primer año de autorización del comercio de productos porcinos españoles, recibió en 2009 más de 12.500 toneladas de carne y productos del sector porcino español, lo que le sitúa en primera posición dentro de las exportaciones agroalimentarias españolas a China.

En España tenemos dos sistemas de producción, con dos tipos genéticos bien diferenciados: cerdo ibérico y cerdo blanco. En ambos casos es muy importante la calidad, y por tanto es básico ofertar productos diferenciados y de calidad, aunque también es preciso optimizar estos sistemas productivos para minimizar costes.

Por tanto, es preciso que la industria mantenga un nivel de desarrollo tecnológico elevado que permita mantener la competitividad para poder así comercializar productos

cárnicos que se adapten a las diversas preferencias de cada uno de los consumidores, determinar estrategias nutricionales para asegurar la calidad, y establecer criterios exclusivos para unos de nuestros productos más apreciados a nivel mundial. Se considera que el consumidor actual (europeo sobre todo) prefiere una carne sin exceso de grasa, con buena capacidad de retención de agua, color uniforme, y sabor y aroma característicos de la carne porcina.

En el caso concreto de la carne y de sus productos derivados, el concepto de calidad debe incluir consideraciones de tipo sensorial, nutricional, higiénico y tecnológico. Los parámetros que definen la calidad de la carne de cerdo pueden ser múltiples, como son el color del músculo, la firmeza y la textura. Pero el que realmente nos marca el índice de calidad, es la grasa, incluyendo el contenido en grasa intramuscular. Cabe destacar, que el engrasamiento también condiciona en gran medida la rentabilidad, ya que resulta muy ineficiente. Es preciso por ello profundizar en estrategias productivas que permitan mantener criterios de calidad elevados (grasa intramuscular), pero que sean compatibles con una alta eficiencia productiva (bajo engrasamiento). Los principales factores que influyen en el engrasamiento son la raza o tipo genético, la edad y la alimentación.

La selección genética de los últimos años se ha enfocado fundamentalmente hacia genotipos conformados, que presentan una mayor proporción de magro en la canal y una velocidad de crecimiento elevada, lo que se traduce en un sacrificio de los animales a edades muy tempranas (por tanto un aumento proteico en detrimento de los lípidos). Además se sabe que la consistencia de la carne, así como el contenido de grasa, incluida la grasa de infiltración, aumentan con la edad de sacrificio de los animales, mejorando de esta manera notablemente la calidad de los productos elaborados.

La regulación del metabolismo de lípidos es un campo de estudio de gran trascendencia en producción y sanidad animal. Entre las muchas posibilidades ensayadas por el sector porcino español (genética, restricción, edad de sacrificio, castración), se encuentra la utilización de nutrientes que afecten de modo específico el reparto de grasa y entre ellas la incorporación en el pienso del ácido linoleico conjugado (ALC) ó más conocido internacionalmente como CLA (conjugated linoleic acid).

La utilización del CLA como herramienta para modular el engrasamiento de los animales presenta grandes incógnitas, debido a la heterogeneidad de dosis, rango de pesos y edades de los animales etc. Sin embargo, es una vía de gran interés debido a que la investigación sobre este compuesto relaciona su enriquecimiento en los productos animales con una alimentación saludable.

Al CLA se le atribuyen múltiples efectos que afectan tanto a la productividad como a la calidad de la canal y de carne derivados por una parte de su potencial regulador del metabolismo lipídico y diferenciación celular, y de otro del interés para el consumidor al prevenir ciertas patologías.

Esta tesis ha sido realizada con la finalidad de valorar y cuantificar los efectos del CLA en diferentes situaciones productivas en los dos sistemas productivos característicos de España, prestando atención especial en todos los casos a los posibles efectos en la calidad de la carne.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. LÍPIDOS. CARACTERÍSTICAS GENERALES

El término grasa se emplea generalmente para referirse tanto a grasas como a aceites. Las grasas y los aceites son constituyentes tanto de las plantas como de los animales, y su función principal es la de actuar como fuentes de energía, aunque también actúan como aislantes térmicos. Ambos tienen la misma estructura general pero con diferentes propiedades físicas y químicas. Los aceites son líquidos a temperatura ambiente y más reactivos químicamente, mientras que las grasas tienen consistencia sólida o semisólida a temperatura ambiente. Químicamente hablando, grasas y aceites se clasifican como lípidos y constituyen el grupo más numeroso dentro de éstos.

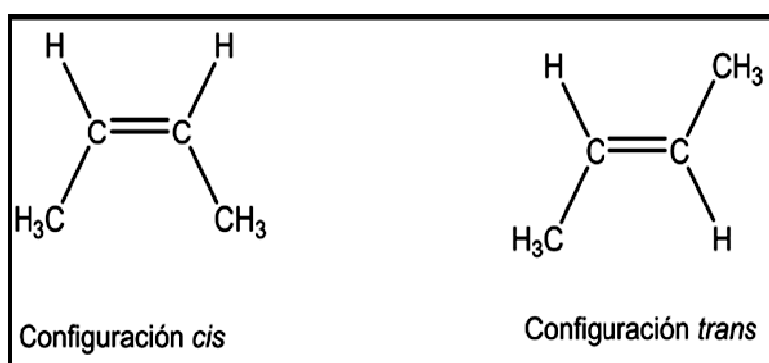
Los **lípidos** son un conjunto de moléculas orgánicas, compuestas principalmente por carbono e hidrógeno y en menor medida oxígeno, que tienen como característica principal el ser hidrofóbicas o insolubles en agua, pero solubles en disolventes orgánicos como la bencina, el alcohol, el benceno y el cloroformo.

Los ácidos grasos (AG) forman parte de la estructura de la mayoría de los lípidos. Los AG son cadenas hidrocarbonadas de longitud variable que tienen en un extremo terminal un grupo carboxilo $-(COOH)$: $CH_3(CH_2)_xCOOH$.

El grupo carboxilo es reactivo y forma fácilmente uniones de tipo éster con grupos alcohol, de forma que la reacción con el colesterol o el glicerol, da lugar a ésteres de colesterol y acilglicerol, respectivamente. Los AG más abundantes en la naturaleza son los de cadena lineal con un número par de carbonos. Los AG pueden ser saturados, cuyos carbonos están unidos por enlaces sencillos, monoinsaturados (AGMI) con un único doble enlace entre carbonos adyacentes o poliinsaturados (AGPI) con dos o más enlaces dobles. Dentro de los AGPI, los AG que contienen más de cuatro enlaces dobles en la cadena hidrocarbonada se les denomina AG altamente poliinsaturados (AGAPI) (Akoh, 2006). Por tanto, el nombre que reciben los AG está determinado por el número de carbonos y el número de dobles enlaces presentes en la cadena hidrocarbonada (**Tabla 1**). En el caso de los AG insaturados existen varias características que deben ser claramente designadas para su correcta identificación, como la posición y configuración de los dobles enlaces. Los dobles enlaces de los AG pueden adoptar una configuración

cis o *trans* según se sitúe el punto inicial y final, en el mismo o distinto plano respecto al doble enlace (**Figura 1**). La posición de los dobles enlaces se identifica nombrando el número del carbono que participa en el doble enlace, siendo el carbono 1 el que se encuentra en el extremo terminal carboxilo. Desde el punto de vista nutricional, se ha extendido una nomenclatura abreviada para la identificación de los AG que se basa en identificar el número de átomos de carbono en la cadena acilada, el número de dobles enlaces y la posición del primer doble enlace, donde el carbono del extremo metilo o carbono omega (ω) es el número 1. Además de estas dos nomenclaturas, frecuentemente los AG se identifican por sus nombres comunes (Calder y Field, 2002).

Figura 1. Configuración *cis* o *trans* de los ácidos grasos



Existen tres grandes familias de AGPI, de acuerdo a la posición del primer doble enlace en la cadena acilada: los ω -3 o n-3, los ω -6 o n-6 y los ω -9 o n-9. Los miembros más sencillos de cada familia (menor número de carbonos y dobles enlaces) son el ácido α -linolénico (18:3 n-3, ALA) y el ácido linoleico (18:2n-6, LA), que reciben el nombre de AG esenciales, ya que no pueden ser sintetizados por mamíferos y deben ser aportados a través de la alimentación. A diferencia de los ω -3 y ω -6, los ω -9 no son AG esenciales. El ácido oleico (18:1 n-9, OA) es el miembro más representativo de los ω -9 y se encuentra presente principalmente en el aceite de oliva. Las principales fuentes de LA son los aceites de semillas: germen de trigo, girasol, maíz, cártamo, soja, pepita de uva y cacahuete, y las margarinas. Por el contrario, el ALA se encuentra en los vegetales, en algunos aceites vegetales como el de soja, colza y linaza, y en las nueces (Yaqoob y Calder, 2007). El LA y el ALA constituyen la parte mayoritaria de la ingesta total de AGPI en la mayoría de dietas occidentales de humanos. Debido al incremento de la ingesta de LA frente a ALA en la mayoría de las personas, la relación de AGPI ω -6/ ω -3

se ha incrementado y actualmente se halla entre 5 y 20 en la mayoría de poblaciones humanas occidentales.

En la serie n-6 el LA es el mas común. Se encuentra en plantas y tejido animal, no puede ser sintetizado por los animales por eso es el principal AG del grupo de los ácidos grasos esenciales; es el precursor de todos los de la serie n-6 por desaturación y elongación. El ácido araquidónico (AA) es el más importante de esta serie porque es el que se utiliza en la síntesis de los fosfolípidos que constituyen la membrana celular y además es precursor de eicosanoides, de importante papel regulador de diversas funciones vitales. En la serie ω -3 el principal representante es el ALA, a partir de él se origina el ácido Eicosapentaenoico (EPA), el ácido Docosapentaenoico (DPA) y el ácido Docosahexaenoico (DHA). El EPA y/o DHA también pertenecen a esta serie ω -3, el DHA es necesario para la función óptima de cerebro y retina.

En la mayor parte de las ocasiones los AGPI de los tejidos animales tienen los dobles enlaces guardando una distancia de 3 carbonos entre los dobles enlaces, teniendo un carbono intermedio que no participa en ningún doble enlace. No obstante, en circunstancias excepcionales, asociado a procesos de hidrogenación de los AG, estos dobles enlaces se pueden situar a tan solo dos carbonos, de modo que haya cuatro carbonos consecutivos que participen en dobles enlaces. A este tipo de enlaces se les denomina conjugados, describiéndose su presencia natural en los animales rumiantes en 1935 (Booth *et al.*, 1935).

Tabla 1. Nomenclatura y fuentes de AG. Modificada de Calder y Field (2002)

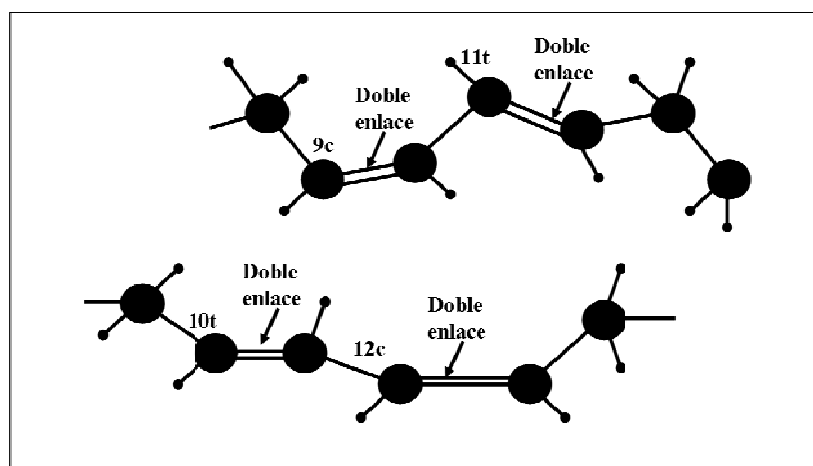
Nombre IUPAC	Nombre común	Abreviatura	Fuentes endógenas y exógenas
Ácido Decanoico	Ácido Cáprico	C10:0	Síntesis de novo, aceite de coco
Ácido Dodecanoico	Ácido Láurico	C12:0	Síntesis de novo, aceite de coco
Ácido Tetradecanoico	Ácido Mirístico	C14:0	Síntesis de novo, leche
Ácido Hexadecanoico	Ácido Palmítico	C16:0	Síntesis de novo, leche, huevos, grasa animal, carne, manteca de cacao, aceite de palma (otros aceites vegetales contienen menores cantidades), aceites de pescado
Ácido Octadecanoico	Ácido Esteárico	C18:0	Síntesis de novo, leche, huevos, grasa animal, carne, manteca de cacao
Ácido 9-Hexadecanoico	Ácido Palmitoleico	C16:1n-7	Desaturación del ácido palmítico, aceite de pescado
Ácido 9-Octadecanoico	Ácido Oleico (OA)	C18:1n-9	Desaturación del ácido esteárico, leche, huevos, grasa animal, carne, manteca de cacao, la mayoría de aceites vegetales
Ácido 9,12-Octadecanoico	Ácido Linoleico (LA)	C18:2n-6	No es sintetizado en mamíferos, algunas leches, huevos, grasa animal, carne, manteca de cacao, la mayoría de aceites vegetales (especialmente de maíz, girasol, cártamo y soja, hojas verdes)
Ácido 9,12,15-Octadecatrienoico	Ácido α -Linolénico (ALA)	C18:3n-3	No es sintetizado en mamíferos, hojas verdes, algunos aceites vegetales (especialmente colza, soja y semillas de lino)
Ácido 6,9,12-Octadecatrienoico	Ácido γ -Linolénico (GLA)	C18:3n-6	Sintetizado a partir del ácido oleico, aceite de onagra
Ácido 11,14,17-Elcosatrienoico	Ácido Aguamiel	C20:3n-9	Sintetizado a partir del ácido oleico
Ácido 8,11,14-Eicosatrienoico	Ácido Dihomo- γ -linolénico (DGLA)	C20:3n-6	Sintetizado a partir del ácido γ -linolénico
Ácido 5,8,11,14-Eicosatetraenoico	Ácido Araquidónico (AA)	C20:4n-6	Sintetizado del ácido linoleico a través de los ácidos γ -linolénico y dihomo- γ -linolénico, carne
Ácido 5,8,11,14,17-Eicosapentaenoico	Ácido Eicosapentaenoico (EPA)	C20:5n-3	Sintetizado del ácido α -linolénico, aceite de pescado
Ácido 7,10,13,16,19-Docosapentaenoico	Ácido Docosapentaenoico(DPA)	C22:5n-3	Sintetizado del ácido α -linolénico vía ácido eicosapentaenoico
Ácido 4,7,10,13,16,19-Docosahexanoico	Ácido Docosahexaenoico(DHA)	C22:6n-3	Sintetizado del ácido α -linolénico vía ácido eicosapentaenoico, aceite de pescado

2.2. ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO (CLA)

2.2.1. ESTRUCTURA Y ORIGEN DEL CLA

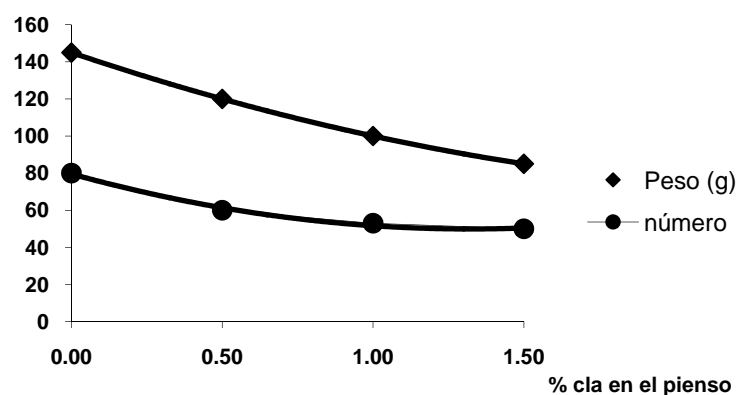
El ácido linoleico conjugado (CLA) es un término genérico que se refiere a una mezcla compleja de isómeros geométricos y posicionales del ácido linoleico (C18:2n-6). El CLA está constituido por 18 átomos de carbono y dos dobles enlaces y posee la misma estructura química que el ácido linoleico (**Figura 2**). Los dobles enlaces en el CLA, son conjugados, lo que posibilita que puedan adoptar la posición *cis* o *trans*. La mayoría de AG insaturados tienen los dobles enlaces en configuración *cis*. Sin embargo, los dobles enlaces *trans* están presentes en productos intermedios de la biosíntesis de grasas en rumiantes, aceites vegetales y en algunos aceites de semillas. Los dobles enlaces de los isómeros del CLA pueden estar en posición 7-9, 8-10, 9-11, 10-12 y 11-13, con todas las combinaciones posibles de enlaces tipo *cis* y *trans*.

Figura 2. Estructura de enlaces del CLA (Stryer, 1988)



Los primeros estudios científicos acerca del CLA fueron realizados en la década de los 70 después de descubrir una sustancia con efecto antimutágeno en la carne de ganado vacuno (Pariza *et al.*, 1979). Se demostró que un derivado parcial purificado de este extracto tenía la capacidad de prevenir los tumores inducidos en ratón con 7-12 dimetilbenzoantraceno (**Figura 3**) (Pariza *et al.*, 1979). Estudios posteriores confirmaron la actividad anticarcinogénica del CLA en modelos *in vivo* e *in vitro* (Pariza y Hargraves., 1985; Ha *et al.*, 1990; Ip *et al.*, 1991).

Figura 3. Efecto del CLA en el desarrollo de tumores mamarios en ratas tras la administración de dimetilbenzantraceno (Ip *et al.*, 1991)



Estudios posteriores han demostrado la presencia de CLA en otros alimentos como leche, productos lácteos, leche humana y tejido adiposo humano (Joo *et al.*, 2002; Chin *et al.*, 1992) hasta encontrar un total de 17 isómeros naturales del CLA (Dhiman *et al.*, 2005).

La complejidad estructural del CLA hace que resulte difícil identificar los isómeros concretos con actividad biológica. Es posible que sean varios los compuestos responsables, aunque hasta el momento, las investigaciones señalan que son dos isómeros los que tienen actividad biológica: el *c9,t11*-CLA y el *t10,c12*-CLA que constituyen alrededor del 80 % del total de isómeros del CLA presentes de forma natural en la carne de rumiantes (Pariza *et al.*, 2001).

No obstante, es preciso indicar que la información respecto a la actividad de estos compuestos es, confusa e incluso contradictoria, debido probablemente a la insuficiencia de estudios para obtener un conocimiento mayor sobre este compuesto, teniendo en cuenta la gran complejidad que existe debido a la variedad de isómeros de CLA potencialmente activos, las distintas funciones que pueden regular o afectar, las posibles interacciones entre ellos, la necesidad de establecer una dosis y tiempo de administración adecuado para cada objetivo y las diferencias en la respuesta debidas al animal (especie, raza, sexo, etc). Así, a lo largo de distintas investigaciones se ha puesto de manifiesto que algunos de los efectos pueden ser producidos por uno solo de los isómeros, mientras que en otros casos parece importante la presencia simultánea de al menos dos. Por ejemplo, en roedores se ha demostrado que la administración de

t10,c12-CLA, produce reducción del engrasamiento, mientras que el isómero *c9,t11*-CLA mejora el crecimiento y la conversión de alimentos (Pariza *et al.*, 2001). En otras ocasiones se ha demostrado un efecto sinérgico entre ambos isómeros (Pariza, 2004).

Las principales fuentes naturales de CLA son los tejidos corporales, principalmente el tejido adiposo de los animales rumiantes. Puesto que el CLA se encuentra en baja proporción en la alimentación de los animales rumiantes –grano y forraje– es evidente que estos animales poseen la capacidad de transformar el ácido linoleico en los isómeros de CLA. En el poderoso ambiente reductor del rumen se lleva a cabo la isomerización bacteriana o/y la biohidrogenación del ácido linoleico (Griinari y Bauman, 1999) (**Figura 4**). El primer paso de este proceso es una isomerización que forma el ácido conjugado *cis*-9, *trans*-11-18:2 (ácido ruménico) el cual es posteriormente hidrogenado en sus dobles enlaces *cis* originando el ácido *trans*-11 octadecenoico 18:1-*t11* (ácido vaccénico) (VA), y éste AGMI trans que predomina en la fracción grasa de los productos de origen rumiante es el penúltimo producto antes de formar el ácido esteárico (**Figura 4**). Si bien distintas bacterias ruminales participan en el proceso de biohidrogenación, el mecanismo de biohidrogenación fue estudiado con más detalle en cultivos de *Butyrivibrio fibrisolvens*. Griinari y Bauman. (1999) utilizando cultivos puros de *Butyrivibrio fibrisolvens* demostraron que en la biohidrogenación del ácido linoleico, el primer paso era la isomerización del ácido linoleico con la formación del ácido linoleico conjugado (CLA), en la forma *cis*-9, *trans*-11 (o *trans*-9, *cis*-11, o ambos), este intermediario es posteriormente hidrogenado originando el ácido esteárico por otras bacterias ruminales (Harfoot y Hazelwood, 1988; Kepler *et al.*, 1966). Si bien el CLA lo constituyen distintos isómeros, el predominante es el *cis*-9, *trans*-11, el cual constituye la mayor parte de los isómeros de CLA totales y está presente en lípidos de la carne y leche de rumiantes (Parodi, 1977).

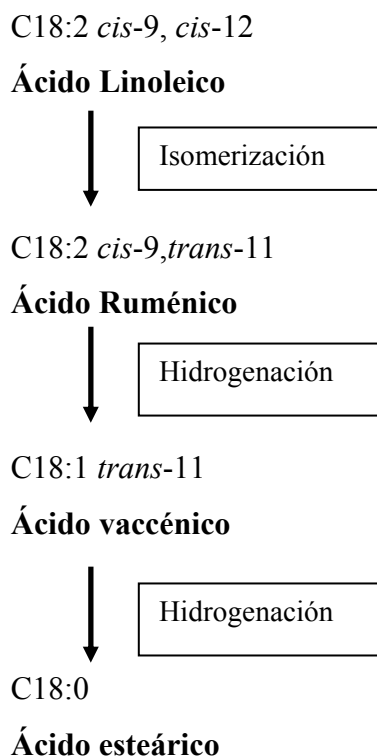
La isomerización y la biohidrogenación están directamente afectados por el pH ruminal (Bessa *et al.*, 2000), ya que si varía el pH ruminal pueden producirse cambios en la población bacteriana, la cual influye en los productos finales de la fermentación.

Aunque existe una estrecha relación entre la función del rumen y el contenido de CLA en la leche y en los lípidos de los tejidos, se ha visto que sólo una pequeña cantidad se absorbe en el rumen e intestino delgado. Se descubrió que de forma endógena la Δ^9 desaturasa es capaz de desaturar el ácido trans-vaccénico y formar *cis*-9 *trans*-11-C18:2. (Bauman *et al.*, 1999; Corl *et al.*, 2001; Griinari *et al.*, 2000) y ésta desaturación es la principal fuente de CLA en los lípidos de la leche y de la carne (Knight *et al.*, 2003).

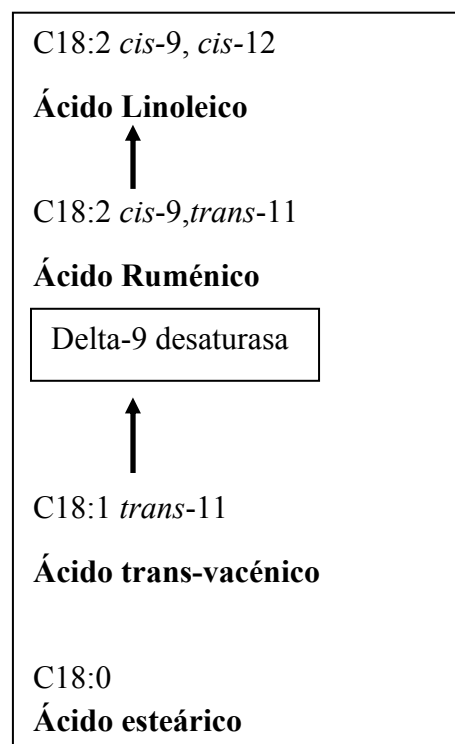
En la especie humana la principal fuente de CLA se debe a su ingestión a través de la carne, la leche y sus derivados (Adlof *et al.*, 2000; Salminen *et al.*, 1998).

Figura 4. Vías de hidrogenación del ácido linoleico en el rumen y en los tejidos (Griinari y Bauman, 1999).

RUMEN



TEJIDOS



2.2.2. FUENTES DE CLA

Como se ha mencionado anteriormente, la principal fuente de CLA son los productos obtenidos de animales rumiantes. Sin embargo, el contenido de CLA está condicionado por las características fisiológicas y genéticas propias de cada animal, por el tipo de alimentación que reciben y por los factores tecnológicos asociados a los procesos de elaboración y conservación de los alimentos.

En la **Tabla 2** se muestran de forma resumida los alimentos con un contenido significativo de CLA. Concretamente, los productos procedentes de leche de oveja y/o cabra poseen mayor contenido de CLA que aquellos procedentes de leche de vaca. Entre los animales no rumiantes el pavo es la fuente más importante de CLA. También se han

visto cantidades de CLA en tejidos de animales menos comunes para el consumo humano, como la carne de visón, búfalo y cebú. La concentración de CLA más alta se ha encontrado en el tejido adiposo de los canguros (38mg/g de grasa) (Schmid *et al.*, 2006).

Los animales acuáticos, cerdos y aceites vegetales aportan pequeñas cantidades de CLA en comparación con los productos de los animales rumiantes.

Tabla 2. Contenido de CLA en los alimentos (modificada a partir de Chin *et al.*, 1992)

Alimento	Total CLA (mg/g grasa)	Alimento	Total CLA (mg/g grasa)
CARNES		ACEITES VEGETALES	
Ternera	2.9	Girasol	0.4
Oveja	5.6	Maíz	0.2
Cerdo	0.6	Oliva	0.2
Pollo	0.9	PRODUCTOS LÁCTEOS	
Pavo	2.5	Leche homogenizada	5.5
Conejo	1.1	Mantequilla	4.7
ANIMALES ACUÁTICOS		Yogur natural	4.8
Salmón	0.3	Helado	3.6
Trucha	0.5	Queso Burgos	6.7
Gambas	0.6	Queso Mozzarella	4.9

Los alimentos procesados utilizados en aperitivos, pasteles y chocolates son otra fuente de CLA debido a que derivan de productos lácteos de rumiantes (Fristzsche *et al.*, 1999). Además, hace unos años se describió un posible mecanismo de formación de CLA en alimentos bajo determinadas condiciones de procesamiento y almacenamiento. Ha, Grimm y Pariza (1989) propusieron que los radicales libres de oxidación del ácido linoleico y linolénico durante el procesamiento pueden permitir la formación de CLA a través de la protonación de estos radicales. Ha *et al.* (1989) observaron un incremento en el contenido de CLA en quesos almacenados que se puede atribuir al mecanismo descrito anteriormente.

Por último, distintos isómeros del CLA pueden ser químicamente sintetizados a partir del ácido linoleico o de fuentes ricas en éste ácido graso, como el aceite de girasol, de soja o de maíz por isomerización en agua alcalina e isomerización en propilen glicol (Christie *et al.*, 1997; Sehat *et al.*, 1998). Los principales isómeros que se obtienen de

ésta síntesis química son el *c9,t11*-CLA y *t10,c12*-CLA, y no se han visto diferencias entre las formas naturales y sintéticas de CLA. Precisamente estos dos isómeros sintéticos son los más utilizados en los experimentos de alimentación porcina que incluyen el CLA (Dugan *et al.*, 2004).

2.2.3. MECANISMO DE ACCIÓN DEL CLA

La producción de animales de carne consiste en la transformación de alimentos de distinto origen (animal, vegetal, mineral) en tejidos animales. A partir de los compuestos adquiridos en el alimento y de los sintetizados por el propio animal. El organismo ejerce una función de distribución de los mismos en los distintos tejidos, células o compartimentos, por lo que la regulación metabólica juega un papel esencial en la composición y propiedades de la carne (López-Bote, 2001). Todas las células del organismo animal son capaces de llevar a cabo las rutas principales del metabolismo, si bien los distintos tejidos y órganos están especializados en determinadas funciones.

Los lípidos de la dieta son digeridos, absorbidos y posteriormente utilizados o almacenados en el organismo. Desde el punto de vista de la nutrición animal, la porción cuantitativamente más importante de los lípidos está constituida por los triacilgliceroles (triglicéridos) y en ellos se almacena la energía proveniente de la grasa.

2.2.3.1. Mecanismos de regulación de la grasa corporal por el CLA

La grasa presente en los tejidos animales puede tener un doble origen. Mientras una parte ingresa en el animal con el alimento (origen exógeno), otra fracción se sintetiza por el propio animal (origen endógeno). La cantidad de grasa acumulada en los animales depende del balance entre la cantidad de grasa que ingresa en el organismo con el alimento, la que sintetiza el animal y la que destina al catabolismo lipídico o a fines metabólicos.

Algunos trabajos experimentales llevados a cabo con cultivos de adipocitos de cerdo, han comprobado que la síntesis endógena es bastante constante y que, aproximadamente, el 45 por 100 de los AG sintetizados son saturados y el 55 por 100 monoinsaturados (Brooks, 1971). Sin embargo la incorporación directa de AG se lleva a cabo por una serie de complejos mecanismos de digestión, absorción y transporte. Los AG acumulados por este mecanismo dependen de la composición de la ración (Sanz *et al.*, 2000; De Smet *et al.*, 2004).

El CLA puede afectar a la acumulación y movilización grasa, síntesis, desaturación y elongación de AG. Uno de los aspectos más importantes del CLA, es su capacidad para reducir el engrasamiento en los animales (Park, *et al* 1995). Park *et al.* (1999) descubrieron que este hecho es debido al isómero *t*10,*c*12-CLA. Se han descrito varios mecanismos por los cuales el CLA puede producir esta reducción del engrasamiento corporal.

La localización del tejido adiposo en el cerdo se divide en tres categorías dependiendo de su posición anatómica y su contribución relativa al engrasamiento de la canal (Hood y Allen, 1973; Henry, 1977). La grasa subcutánea constituye el 65% de toda la grasa del animal. La grasa intermuscular asociada con el tejido conectivo que separa los planos musculares medio y profundo, representa el 30%. Finalmente, la grasa interna, representada principalmente por la grasa intestinal y perirrenal representa aproximadamente el 5% de la grasa total (Mourot y Hermier, 2001).

A continuación se describen los mecanismos de regulación de la grasa corporal por el CLA:

2.2.3.1.1. Incremento del gasto energético

El gasto energético es la relación entre el consumo de energía y la energía necesaria por el organismo. Para que el organismo pueda mantener su equilibrio la energía consumida debe de ser igual a la utilizada, o sea que las necesidades energéticas diarias han de ser igual al gasto energético total diario. La acumulación de grasa en los tejidos animales depende del exceso de calorías consumidas respecto a las necesidades, es decir, la importancia de los procesos de síntesis propios del animal y la incorporación directa.

El incremento del gasto energético, es un mecanismo potente, capaz de ocurrir a cualquier nivel en todo el animal. Para ser eficaz, esto tendría que ocurrir sin consumo de alimento. En ratones con dietas altas y bajas en grasa, el CLA provocó aumento en el gasto de energía por incremento en el consumo de oxígeno y por incremento de la expresión de las (uncoupling proteins) proteínas desacopladoras (UCP) ya que ambos son indicadores del gasto energético (Choi *et al.*, 2004; Nagao *et al.*, 2003; West *et al.*, 2000). Sin embargo otros trabajos no detectaron efectos sobre el gasto de energía en ratones (Tsuboyama-Kasaoka *et al.*, 2000), y cerdos (Muller *et al.*, 2000; Muller *et al.*, 1999). Aunque no está muy claro la UCP-2 (uncoupling-protein 2) puede actuar como intermediario en el gasto energético incrementando la producción de calor, pero los estudios desarrollados en tejido adiposo de ratón no han encontrado efectos claros.

El gasto energético podría ser un mecanismo para reducir la grasa en animales alimentados con CLA, pero no parece ser un mecanismo universal y sus resultados son controvertidos.

2.2.3.1.2. Modulación del metabolismo de los adipocitos

Los adipocitos, células constituyentes del tejido adiposo, proceden de las células parenquimatosas pluripotenciales. A partir de éstas se generan las células parenquimatosas, que ya derivan en adipoblastos, que son células indiferenciadas sin enzimas lipogénicas ni vacuolas grasas. A lo largo de las sucesivas divisiones de los adipoblastos, algunos de ellos sufren una diferenciación final y adquieren las enzimas asociadas con la síntesis y movilización de lípidos a la vez que pierden su capacidad para la síntesis de proteínas estructurales. De este modo pasan a ser células con un mayor grado de diferenciación, denominándose preadipocitos (Ailhaud, 1982; Ailhaud *et al.*, 1992). Los preadipocitos se caracterizan por poseer al menos tres grupos de proteínas específicas: proteínas que permiten la síntesis y almacenamiento de lípidos tales como la ácido graso sintetasa o la lipoproteína lipasa (LPL), proteínas que permiten la hidrólisis y liberación de lípidos almacenados, y proteínas necesarias para la recepción de señales hormonales (insulina, catecolaminas, etc). Posteriormente se producirá una diferenciación terminal en la que los preadipocitos se convierten en adipocitos maduros, los cuáles ya presentan mayor capacidad para la acumulación de lípidos en su interior con una única vacuola y se encuentran agrupados cerca de los capilares

La capacidad del CLA para reducir el engrasamiento a través de la reducción del tamaño y/o número de adipocitos puede estar relacionada con los siguientes mecanismos de acción:

2.2.3.1.2.1. *Modulación de la proliferación de preadipocitos*

Un mecanismo para incrementar la acumulación de grasa es aumentar el número de adipocitos. Los preadipocitos cuando proliferan tienen la capacidad de llenarse de lípidos e incrementar el depósito graso. Se ha visto en experimentos realizados con células 3T3-L1 de ratones clonados, una reducción del 10-50 % en la proliferación celular dependiendo de la dosis de CLA utilizada (de 25 a 100 M de CLA) (Brodie *et al.*, 1999; Evans *et al.*, 2000; Satory y Smith, 1999). Idéntico comportamiento se ha observado en experimentos con cultivos celulares de preadipocitos en humana, a dosis

de 50 M de CLA (McNeel y Mersmann, 2001). Asimismo en algunos experimentos realizados en animales superiores (cerdos) que recibían CLA en el alimento se ha podido observar una reducción en la síntesis de ADN y por tanto, menor potencial genético de las células (Adams *et al.*, 2001). Sin embargo en otros experimentos in vivo realizados en ratones, humanos y cerdos no se han obtenido resultados, lo cual, hace pensar que la reducción de la grasa acumulada por este mecanismo puede verse mediatizada por otras variables.

2.2.3.1.2.2. *Modulación de la diferenciación de preadipocitos*

Cuando los preadipocitos presentan un entorno apropiado de factores de diferenciación, tales como factores de crecimiento y hormonas, comienzan a diferenciarse. Este proceso de diferenciación es complejo, ya que los preadipocitos deben interrumpir su crecimiento y salir del ciclo celular, previamente a su conversión terminal en adipocitos (Ailhaud, 1996). Además, este proceso de diferenciación supone cambios cronológicos en la expresión de numerosos genes. Inicialmente los factores de transcripción, CCAAT llamados proteínas de unión al activador, conocidos en inglés como Enhancer Binding Proteins (C/EBPs) aumentan. Estos factores estimulan el incremento de otro de los factores de transcripción que son los receptores activados por proliferadores de peroxisomas, conocidos en inglés como Peroxisome Proliferator-Activated Receptor (PPAR), el cual a su vez genera un incremento del C/EBP. Estas dos familias de factores de transcripción, la C/EBPs y los PPARs son las principales reguladoras de la transcripción de genes adipogénicos (MacDougald *et al.*, 1995).

La familia C/EBP está constituida por varias isoformas (Cao *et al.*, 1991): C/EBP α , C/EBP β y C/EBP δ . C/EBP α parece ser un factor nuclear indispensable y crítico en el proceso de diferenciación de los adipocitos (Lin y Lane, 1994). Varios estudios han puesto de manifiesto que este factor de transcripción es suficiente para poner en marcha el proceso de diferenciación e incluso en ausencia de agentes inductores de la diferenciación (Freytag *et al.*, 1994).

Diversos ensayos indican que en relación con el CLA, es mucho más importante el PPAR como factor de diferenciación adipocitaria que el C/EBPs (Wu *et al.*, 1995) ya que el CLA es un ligando activador de muy alta afinidad (Belury, 1999).

Los PPARs son un grupo de factores de transcripción pertenecientes a la familia de receptores de ubicación nuclear, que están activados por AG y sus metabolitos (eicosanoides), y controlan una gran variedad de genes implicados en etapas clave del

metabolismo lipídico (como la LPL, carnitin palmitoil transferasa (CPT), proteína de unión de ácidos grasos (FABP) y estearoil CoA desaturasa (SCD)) y de la diferenciación celular (Grimaldi, 2001). Se han identificado varios subtipos de PPAR en diferentes especies de vertebrados. En base al análisis del dominio de unión a DNA, altamente conservados, los PPARs han sido clasificados en la subfamilia de receptores nucleares que incluyen al receptor de ácido retinoico (RAR), de la hormona tiroidea, y de los receptores huérfanos (sin ligando conocido). La familia de los PPARs está compuesta de tres subtipos, PPAR α , PPAR β y PPAR γ . El PPAR no actúa solo, sino que forma un heterodímero con otro factor de transcripción, el receptor de retinoides X (RXR) (Belury *et al.*, 1997; Kliewer *et al.*, 1997). Los tres PPARs muestran patrones de expresión muy diferentes: PPAR α se expresa abundantemente en el hígado, el riñón, el corazón y los músculos; PPAR γ es más expresado en células de grasa, intestino grueso, y las células de los monocitos, y PPAR β se expresa en casi todos los tejidos (Tontonoz *et al.*, 1994).

El PPAR α modula la acción pleiotrópica de los proliferadores peroxisomales, regulando genes de la homeostasis lipídica, tales como los del metabolismo de AG en mitocondrias, peroxisomas, y citocromo P450, la síntesis de apolipoproteínas, el transporte intracelular de lípidos y la supresión de la apoptosis (Belury *et al.*, 1997). El PPAR α participa en el catabolismo de ácidos grasos así como en el transporte extracelular de lípidos y puede ser regulado, entre otros compuestos, por ácidos grasos poliinsaturados (Lemberger *et al.*, 1996). Se sabe que el CLA es un potente ligando y activador del PPAR α (Moya-Camarena *et al.*, 1999) y se ha propuesto que su efecto hipolipemiente está mediado por éste receptor, al igual que los fármacos hipolipemiantes del grupo de los fibratos (Houseknecht *et al.*, 1998).

Por otro lado se ha demostrado que el PPAR γ tiene función clave en la diferenciación de adipocitos (Lemberger *et al.* 1996; Walczak y Tontonoz, 2002) y regula la expresión de la LPL (Park *et al.*, 1997). Houseknecht *et al.* (1998) y Belury *et al.* (2002) observaron que el CLA es también un activador y ligando de afinidad intermedia para PPAR γ . Se conoce poco aún de la función de PPAR β .

Hasta el momento se han planteado dos teorías a través de las cuales puede actuar el CLA: una basada en el efecto antagónico con algunos eicosanoides a nivel del retículo endoplásmico (PPAR γ -independiente) y otra a través de la activación del PPAR γ a nivel nuclear (PPAR γ -dependiente) (Banni *et al.*, 2001).

La más importante es la que se basa en que el CLA es un activador de PPAR γ , de gran importancia porque es el único miembro de la familia PPAR que se encuentra expresado en niveles altos en tejido adiposo (Tontonoz y Spiegelman, 1994).

En resumen, si se consigue controlar el número de preadipocitos que se diferencian en adipocitos maduros, se puede conseguir disminuir su capacidad para llenarse de lípidos y por tanto reducir los depósitos grasos en los animales. Varios trabajos han puesto de manifiesto una relación cuantitativa entre la dosis de CLA y la diferenciación de preadipocitos en cultivos celulares (3T3-L1) en roedores (Brodie *et al.*, 1999; Evans *et al.*, 2000). Otros trabajos realizados en cultivos celulares de humana tratados con CLA también observaron una disminución de la diferenciación de preadipocitos (Brown *et al.*, 2001). La concentración de mRNA de los factores de transcripción PPAR y C/EBP disminuyeron en cultivos celulares (3T3-L1) en presencia de CLA (Brodie *et al.*, 1999), sin embargo otros investigadores no encontraron efecto del CLA en la concentración de mRNA de PPAR γ (Evans *et al.*, 2001). También, se ha propuesto que el CLA puede ejercer efectos antidiabéticos, mediante la unión al receptor nuclear PPAR γ . Éste regula la sensibilidad a la insulina activando la transcripción de los genes involucrados en la señalización de la insulina, el consumo de glucosa y AG, al igual que el almacenamiento de AG (Brown *et al.*, 2003; Zhou *et al.*, 2008). Por otra parte, el CLA está implicado en diversos procesos inmunológicos, ya que se ha descrito que cerdos alimentados con una dieta rica en CLA muestran un incremento en la producción de PPAR γ , y un menor daño inflamatorio en la mucosa por la disminución de citocinas pro-inflamatorias en la enfermedad inflamatoria intestinal de cerdos blancos.

Tal y como se ha señalado, existe muy poca información sobre la modulación de la diferenciación de preadipocitos por el CLA *in vivo* en ganado porcino, pero los resultados disponibles muestran que no es un mecanismo consistente en estos animales (Suryawan y Hu, 1993).

2.2.3.1.2.3. *Inhibición la actividad de la estearoil-CoA desaturasa*

Esta enzima cataliza la conversión de AG de cadena larga a AGMI (Lee *et al.*, 1998). Los principales sustratos de la enzima son, el C16:0 y el C18:0 que son convertidos a C16:1 n-7 y el C18:1 n-9 respectivamente. La concentración de mRNA de la SCD se redujo en ratones alimentados con CLA (Lee *et al.*, 1998). Numerosos estudios han mostrado la modificación de la composición de AG en varios tejidos animales

alimentados con CLA o en células tratadas con CLA, se produce un incremento en la concentración de C16:0 y/o C18:0 con disminución en la concentración de C16:1 y/o C18:1 o de las proporciones C16:1/C16:0 y/o C18:1/C18:0. Estas modificaciones en la composición de AG sugiere una inhibición de la actividad de la SCD en las células 3T3-L1 de ratón (Lee *et al.*, 1998), cerdo (O'Quinn *et al.*, 2000b) y leche de cerda (Bee, 2000a).

2.2.3.1.2.4. Incremento de la apoptosis de preadipocitos y adipocitos

Un aumento de los procesos de apoptosis de los preadipocitos y de los adipocitos podría contribuir, o incluso ser la principal causa, en la disminución de la acumulación de grasa en los animales tratados con CLA. Miner *et al.* (2001) observaron en ratones tratados con CLA durante 7-9 días un incremento en la fragmentación del DNA de los adipocitos, lo cual es indicativo de apoptosis. Por otra parte, Evans *et al.* (2000) también observaron aumento de apoptosis en preadipocitos clonados de 3T3-L1 al aportar CLA. Por tanto, éste podría ser un mecanismo de importancia para explicar la disminución de la acumulación grasa observado en algunos animales superiores. No obstante, es preciso tener en consideración que el CLA es tóxico para las células y determinadas concentraciones de CLA pueden producir incrementar la apoptosis por esta vía, lo que no significa necesariamente que este efecto del CLA en la apoptosis celular sea de importancia in vivo. De hecho, los efectos tóxicos a nivel celular del CLA, particularmente a altas concentraciones, no se han observado en experimentos in vivo, solo en trabajos con cultivos celulares.

2.2.3.1.3. Regulación de la síntesis y catabolismo de los ácidos grasos

La regulación de la lipogénesis y la lipólisis, como dos importantes rutas del metabolismo energético, es dependiente del estatus energético o nutritivo del animal. Cada proceso está controlado individualmente e integrado con unos mecanismos celulares concretos. Aunque el producto inicial de uno sea el producto final de otro, el equipamiento enzimático es también diferente.

2.2.3.1.3.1. Síntesis de ácidos grasos

La lipogénesis en mamíferos se realiza de forma activa tanto en el tejido adiposo como en el hepático. Los procesos de síntesis comienzan como resultado de la abundancia energética de la célula. Cuando se detectan altos niveles intramitocondriales de citrato

como resultado del catabolismo de hidratos de carbono y aminoácidos cetogénicos, se produce un fenómeno de expulsión del citrato al citosol, donde se escinde en acetil-CoA y oxalacetato (Stryer, 1988). El acetil-CoA producido puede ser carboxilado a malonil-CoA mediante la acción de la enzima acetil-CoA carboxilasa (ACoAC). Posteriormente la cadena se elonga por enlaces sucesivos de acetil-CoA al malonil-CoA. Este paso está catalizado por el complejo multienzimático denominado ácido graso-sintetasa (AGS). La adición sucesiva de unidades de 2 átomos de carbono a un cebador de acetilo da lugar a la formación de cadenas de AG con un número par de átomos de carbono. El producto final mayoritario de la síntesis de AG en el hígado y en el tejido adiposo es el C16:0 (Enser, 1984). Un aspecto esencial en el funcionamiento del complejo AGS es la necesidad permanente de un aporte constante de poder reductor en forma de NADPH, que es suministrado principalmente por la actividad de la enzima glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) integrada en la ruta de las pentosas fosfato que se ve favorecida por la degradación de la glucosa sobrante que entra en la célula. La enzima málica (ME), la isocitrato deshidrogenasa y la 6-fosfogluconato deshidrogenasa también aportan NADPH al proceso pero en menor cuantía (Stryer, 1988). Los AG de la dieta junto con los recién sintetizados se incorporan en la estructura de las membranas en forma de fosfolípidos, o son esterificados en triglicéridos para ser almacenados en el hígado o transportados en forma de VLDL.

En mamíferos, la hormona más importante asociada con el control de lipogénesis es la insulina. Los niveles de insulina aumentan después de las comidas, estimulando la síntesis del glucógeno, la oxidación de glucosa y la síntesis de AG.

La vía principal para la síntesis de novo de AG ocurre en el citosol y se produce sobre todo en el tejido adiposo. Los cofactores que se usan son el NADPH, ATP, Mn^{2+} , biotina y HCO_3^- (como fuente de CO_2). El Acetyl-CoA es el substrato y el palmitato es el producto final.

La producción de Malonil-CoA es el paso controlador para la iniciación de la síntesis de AG y se produce por la carboxilación del acetil-CoA en presencia de ATP y acetil CoA carboxilasa (ACoAC) la reacción catalizada por la ACoAC se encuentra en una posición clave del metabolismo lipídico, entre la ruta de síntesis y de degradación de los AG. Como citamos anteriormente la ACoAC, convierte el acetil CoA en malonil CoA que es el metabolito donante de los dos átomos de carbono necesarios tanto para la síntesis de AG como para los procesos de elongación de los AG. La ACoAC está sometida a dos tipos de regulación, una alostérica realizada por distintos moduladores que actúan de

forma muy puntual activando la enzima, como el citrato, o inhibiéndola como los acil-CoA de cadena larga o el AMD, y una regulación por modificación covalente, existen dos formas de la enzima, una activa y otra sin activar, el paso de una a otras está regulado hormonalmente, la insulina la activa, y el glucagón y la adrenalina la inactivan (Zammit 1996; Garrido *et al.* 2003).

El aumento de tamaño del tejido adiposo, en muchas especies, es por la hipertrofia de las células como resultado del aumento del triacilglicerol en los adipocitos. La inhibición de síntesis de lípidos disminuiría la acumulación grasa. Este efecto de disminución de grasa se ha observado en la leche en vacas (Baumgard *et al.*, 2000; Baumgard *et al.*, 2001; Chouinard *et al.*, 1999; Loo y Herbein, 1998). Además, las concentraciones de transcripción para la ácido graso sintasa y acetilCoA carboxilasa fueron más bajas en el tejido adiposo de ratones alimentados con CLA (Tsuboyama-Kasaoka *et al.*, 2000) y el mRNA de la ácido graso sintasa fue menor en el tejido adiposo de cerdos.

La enzima lipoproteína lipasa (LPL) se sintetiza en el adipocito y migra a la superficie de la célula endotelial, y ahí actúa para unir los AG a las lipoproteínas circulantes. A partir de ese momento, los AG pueden entrar en el adipocito para ser oxidados o servir como componentes básicos para la síntesis de lípidos complejos, incluyendo los triglicéridos. Un descenso en la actividad de la LPL en los adipocitos, reduciría el número de AG disponibles para la síntesis de triacilglicerol y por tanto la acumulación grasa. Algunos experimentos *in vitro* han puesto de manifiesto que la actividad de la LPL en células 3T3-L1 se redujo en células tratadas con *t10,c12*-CLA, pero no por la adición de *c9,t11*-CLA (Lin *et al.*, 2001; Park *et al.*, 1997). La concentración de triacilglicerol en plasma aumentó en cerdos alimentados con CLA, sugiriendo una menor absorción de lípidos. Estos datos permiten suponer que la capacidad de modular la acumulación grasa es una característica del isómero *t10,c12*-CLA.

2.2.3.1.3.2. Catabolismo de ácidos grasos (β -oxidación)

La β -oxidación de AG la principal ruta en el metabolismo animal para obtener energía en forma de ATP. Los AG se oxidan en el interior de la mitocondria (β -oxidación mitocondrial) o en los peroxisomas (β -oxidación peroxisomal).

En mamíferos la β -oxidación mitocondrial, oxida AG de cadena corta, media y larga, mientras que en los peroxisomas solo se oxidan algunos AG de cadena larga pero

principalmente los de cadena muy larga (Stryer, 1988). La diferencia entre los sistemas enzimáticos de estos dos procesos se encuentra en la activación del AG a éster-CoA. La mitocondria utiliza una acil-CoA deshidrogenasa para convertir el acil-CoA a enoil-CoA y ésta enzima transfiere los electrones al Flavin Adenina Dinucleotido (FAD), y ya pasa a la cadena transportadora de electrones. En los peroxisomas, la enzima acil-CoA oxidasa, se utiliza para introducir un doble enlace al acil-CoA y transferir los electrones al oxígeno, produciendo peróxido de hidrógeno, un producto que da lugar a agua y oxígeno por acción de la enzima catalasa. Los siguientes pasos son iguales para ambos procesos, pero las enzimas para cada uno de ellos son codificadas por distintos genes.

La oxidación de los AG comienza con una activación (unión al CoA) en la membrana mitocondrial externa catalizada por la enzima acil-CoA sintetasa (ACS) (también llamada ácido graso tioquinasa) en una reacción que requiere la energía del ATP y donde los AG libres se convierten en tioésteres de coenzima A (acil-CoA) (Garrido *et al.* 2003). Las moléculas de acil-CoA de cadena larga no pueden cruzar por sí mismas la membrana mitocondrial interna, por lo que necesitan un mecanismo especial de transporte, que está mediado por la carnitina. El Acil CoA se convierte a acil carnitina que penetra en el interior de la membrana mitocondrial permitiendo su restauración a Acil-CoA en la matriz mitocondrial. La carnitina palmitoil transferasa -1 (CPT-1) regula la entrada de grupos acilo a la matriz mitocondrial, el cual es un paso crucial, previo a la oxidación (Frøyland *et al.*, 1998).

Por tanto la enzima CPT-1 es la enzima limitante de la entrada de AG de cadena larga al interior mitocondrial para su posterior oxidación. Después de la activación de los AG, el resto del proceso se produce en el interior de la mitocondria. La β -oxidación es una serie cíclica de reacciones donde los productos finales son, NADH y FADH₂, que se oxidarán posteriormente en la cadena respiratoria. El acetil-CoA se oxidará a través del ciclo del ácido cítrico, para la producción de energía en forma de ATP.

En la β -oxidación peroxisomal, la enzima clave es la acil-CoA oxidasa. Cuando los AG son oxidados en los peroxisomas, se produce una pérdida de energía en forma de calor, en lugar de aumentar el número de ATP producidos en la mitocondria.

2.2.3.1.3.2.1. Incremento de la β -oxidación

La capacidad de los animales para catabolizar grasas depende, entre otros factores, de la capacidad mitocondrial para oxidar AG, que a su vez es función de la capacidad real del

sistema de transporte de carnitina para transferir los AG activados de fuera a dentro de la mitocondria (Brouns y Vusse, 1998).

La actividad de este sistema está regulada por el malonil-CoA (Saggerson *et al.*, 1992) que es el producto de la primera reacción en la síntesis de AG y actúa como potente inhibidor de la CPT-1. De todo ello se deduce que si el organismo utiliza glucosa para la síntesis de AG, la concentración de malonil-CoA se verá incrementada y por tanto se produce una inhibición de la actividad CPT-1. Por el contrario los niveles de malonil-CoA serán bajos si los niveles de glucosa también lo son o si el nivel de glucagón es relativamente alto comparado con el de la insulina.

Por otra parte, un incremento en β -oxidación de los AG produce una reducción en la disponibilidad de AG para la síntesis de triglicéridos, y por tanto una disminución de la acumulación de grasa. La β -oxidación provoca un descenso en el cociente respiratorio (RQ). West *et al.* (1998) observaron una disminución de este cociente en ratones alimentados con una dieta baja en grasa que contenía CLA al compararse con un grupo testigo, lo que indica una activación de los mecanismos de lipólisis.

Asimismo, Pariza *et al.* (2001) y Wahle *et al.* (2004) observaron que el CLA incrementa la β -oxidación de AG en el músculo esquelético, lo que sugiere un aumento en la actividad y/o expresión de la CPT-1. Al igual que ocurre en muchos de los efectos del CLA, Park *et al.* (1997) encontraron en ratones que la actividad de la CPT-1 se redujo por el isómero *t*10,*c*12-CLA y no por el isómero *c*9,*t*11-CLA.

2.2.3.1.4. Modulación de Eicosanoides

Los eicosanoides o icosanoides son un grupo de moléculas de carácter lipídico, en el cual se agrupan un amplio número de sustancias biológicamente activas. La característica común de los eicosanoides es derivarse de ácidos grasos poliinsaturados de 20 átomos de carbono (Lee *et al.*, 1985) (conocidos como ácidos eicosapolienoicos o eicosanoicos). Desempeñan una gran variedad de funciones, como ser mediadores del sistema nervioso central, intervenir en los procesos de la inflamación y de respuesta inmune, etc. Los eicosanoides están agrupados en prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos.

Varios experimentos realizados con CLA han demostrado que la inclusión de éste ácido graso puede afectar a la síntesis de eicosanoides, especialmente a las prostaglandinas (PGE₂) (Sugano *et al.*, 1998). El CLA modifica el metabolismo de los AG omega-6 inhibiendo su desaturación por inhibición de la enzima delta 6-desaturasa (Sugano *et al.*, 1998). La síntesis y función de los eicosanoides se puede alterar por una baja

disponibilidad del AA. La disponibilidad del AA o similares derivados pueden disminuir si el CLA compite con las enzimas de desaturación y elongación del LA (Banni *et al.*, 2001).

La cantidad de leptina sintetizada está relacionada con el tamaño del adipocito. La concentración plasmática de esta hormona se relaciona con la masa de tejido adiposo corporal. Delany *et al.* (1999) observaron una reducción de la concentración plasmática de leptina en ratones alimentados con piensos enriquecidos en CLA. Además se ha demostrado que el CLA reduce la expresión y secreción de leptina (Inoue *et al.*, 2004; Ryder *et al.*, 2001), pero esta reducción puede ser debida a un efecto indirecto debido a la reducción del tejido adiposo, por lo que se hace necesario profundizar en estos estudios.

La mayoría de las investigaciones iniciales en torno a la leptina se han centrado en su papel como factor regulador del peso corporal (Doerrler *et al.*, 1994). Sin embargo, estudios posteriores han permitido describir una amplia distribución de receptores para esta hormona en diversos tejidos periféricos, abriéndose, así, un vasto campo de investigación sobre las funciones biológicas de esta hormona (Belury *et al.*, 1999; Akahoshi *et al.*, 2002). Por otra parte, la leptina participa en procesos fisiológicos tan diversos como la reproducción, la ingestión voluntaria o la inmunidad.

2.2.4. INTERÉS DEL CLA EN LA ALIMENTACIÓN

El hallazgo de la presencia y propiedades del CLA en los alimentos obtenidos de los rumiantes supone un hecho de gran relevancia para la producción animal, y específicamente para la producción de rumiantes. Se trata de la primera información positiva que se ha generado en las últimas décadas que hace referencia al consumo de alimentos de origen animal, lo que contrarresta en parte la acumulación de información negativa (colesterol, AGS, radicales libres y productos de oxidación, residuos de sustancias de secreción hormonal, posible transmisión de enfermedades, tales como salmonelosis, encefalopatías, etc) que produce graves consecuencias a largo plazo en el sector ganadero (López-Bote, 2002).

2.2.4.1. El CLA como alimento funcional

Alimentos funcionales son aquellos que son elaborados no sólo por sus características nutricionales sino también para cumplir una función específica como puede ser mejorar la salud y reducir el riesgo de contraer enfermedades.

El reconocimiento del CLA como componente funcional de los alimentos se produjo de forma accidental, cuando se descubrieron sus propiedades antimutagénicas en la carne cocida de bovinos (Pariza, 1999).

Resulta difícil cuantificar la ingesta de CLA ya que no se dispone de suficientes datos sobre el contenido de los isómeros en los alimentos. Además, conviene ser precavido al establecer recomendaciones genéricas en el consumo de cualquier nutriente, debido a la gran variedad de situaciones en los consumidores.

En una dieta mixta, promedio occidental, se estima que el consumo de CLA oscila entre 0,3 a 1,5 g por persona y día (Parodi, 1994). Algunos estudios han puesto de manifiesto que dicho consumo sería superior en el hombre (0,212 g/día) respecto al registrado en la mujer (0,151 g/día), dependiendo también del balance entre el consumo de productos de origen animal y vegetal. Sin embargo, el consumo es muy variable y depende de los hábitos de cada país. Por ejemplo, dentro de los países cuyo consumo se ha establecido, Australia presenta los valores mas altos (1,5-1,8 g/día), en tanto que Alemania muestra los valores mas bajos (0,5 g/día) (Fritsche y Steinhart, 1998). La carne consumida en los países germanos proviene principalmente del cerdo. En Estados Unidos el consumo promedia los 0,9-1,2 g/día (Hunter y Applewhite, 1986). Se desconoce el consumo de CLA en América Latina. En general, el 60% de la ingesta total de CLA procede de productos lácteos y el 37% de productos cárnicos, donde la proporción entre *c9,t11*-CLA y *t10,c12*-CLA varía de 30:1 a 70:1 (Wahle *et al.*, 2004; Haro *et al.*, 2006). Del total de CLA presente en leche, el isómero *c9,t11*-CLA representa el 80-90% del CLA total (Chin *et al.*, 1994b). La ingestión diaria de CLA con los alimentos convencionales puede resultar insuficiente para que los mismos puedan expresar sus potenciales efectos bioquímicos, moleculares y fisiológicos contra el cáncer, aterosclerosis y obesidad (Watkins y Li, 2003). Otros muchos trabajos han estimado que la media total de CLA, ingerido de fuentes naturales de CLA (Schimid *et al.*, 2006), se encuentra entre 95-440mg debido a diferencias entre países, hábitos alimenticios y diferente valor de CLA en los alimentos, y por tanto el consumo alimenticio óptimo todavía no está establecido. Por otra parte, una alimentación de los animales rumiantes dirigida a aumentar la

concentración de CLA puede permitir lograr sustanciales incrementos de este compuesto en el producto final.

Un aspecto de importancia práctica y no claramente dilucidado aún, reside en la estimación de la cantidad efectiva mínima de compuesto (CLA) a consumir diariamente por un ser humano para obtener un efecto terapéutico o protector sobre la salud. En animales de laboratorio (ratas) se ha demostrado que con concentraciones muy bajas de CLA se logra disminuir el número de tumores mamarios (Ip *et al.*, 1994). Para una rata de unos 350g de peso vivo el consumo diario preventivo de CLA sería del orden de 0,015g, y por tanto una extrapolación directa a un ser humano de 70kg implicaría un consumo de 3g/día de CLA. Sin embargo y para calcular una ingestión equivalente de CLA en el ser humano, es probablemente más adecuado utilizar como base de cálculo el peso metabólico (peso vivo^{0.75}). De acuerdo con este cálculo sería necesario alcanzar un consumo diario de 0,8 g de CLA para ejercer un efecto anticancerígeno en una persona de unos 70kg de peso vivo (Watkins y Li, 2003). Algunos autores se han arriesgado a establecer consumos teóricos recomendables de CLA para la especie humana, situándolo en 95mg por día como suficientes para mostrar efectos positivos en la reducción del cáncer de pecho de las mujeres. Ip *et al.* (1994) y Pariza *et al.* (2001), establecieron una dosis alrededor de 15-20g/día cuando el objetivo es conseguir un efecto antilipogénico y lipolítico. Ritzenthaler *et al.* (2001) también basándose en resultados con experimentos en animales, establecieron una dosis de 620mg/día para los hombres y 440mg/día para las mujeres para prevenir el cáncer. Por tanto, ya hemos visto que hay diferentes recomendaciones de ingestión de CLA, pero el objetivo principal es enriquecer los alimentos con una concentración de CLA adecuada para que pueda tener efectos beneficiosos sobre la salud del consumidor (**Tabla 3**), y sobre todo en la protección frente al cáncer.

Tabla 3. Estimación del consumo diario de CLA ante la ingestión de alimentos convencionales o naturalmente enriquecidos en CLA

Alimento	Consumo diario (g)	CLA normal (mg/g grasa)	CLA enriquecido (mg/g grasa)	CLA dieta normal (mg)	CLA enriquecida (mg)
Carne de vacuno ⁽¹⁾	80.7	4.3	12.4	19.1	55
Carne de cerdo ⁽²⁾	61.1	0.6	7.1	1.5	17.4
Carne de pollo ⁽³⁾	64.2	0.9	17.8	1.7	34.3
Leche ⁽⁴⁾	726	5.5	14.1	127.7	327.5
Huevos ⁽⁵⁾	0.66	0.00	87.0	0.0	258.4
Consumo total CLA				150	692.6

⁽¹⁾5.5% de grasa. ⁽²⁾4% de grasa. ⁽³⁾3% de grasa. ⁽⁴⁾3.2% de grasa. ⁽⁵⁾4.5 g de grasa por huevo

Cuando el aporte en la dieta de AA es alto, sobre el 5% del aporte de grasa, como el que se puede obtener en forma experimental en ratas, es posible encontrar CLA ampliamente distribuido en el hígado, en los pulmones, y en el tejido muscular y adiposo (Kramer *et al.*, 1998). En humanos también se ha observado la presencia de CLA, ya sea en la leche o en el plasma sanguíneo (Jahreis *et al.*, 1999). En la leche, el isómero mas frecuente es el *c9,t11*-CLA, cuyos niveles fluctúan en 0,15%-0,22% (Jensen *et al.*, 1998). En el suero sanguíneo humano el isómero *c9,t11*-CLA llega a constituir hasta el 0,4-0,5% del total de los lípidos circulantes (Salminen *et al.*, 1998). De cualquier forma, los niveles de CLA determinados en los humanos pueden ser muy variables, ya que dependerán de la cantidad y tipo de carne que se consume y del tipo de alimentación que reciben los animales, de los hábitos de consumo individuales, de la composición total de la dieta, entre otros factores (Ackman *et al.*, 1981). No existe información si en humanos es posible la transformación de ácido vaccénico en CLA.

2.2.4.2. Composición, concentración y dosis de CLA

Los efectos del CLA dependen de la composición de la preparación y del contenido de los isómeros principales *c9,t11*-CLA y *t10,c12*-CLA. La diversidad e incluso la contradicción de los resultados obtenidos en estudios experimentales previos se deben en gran medida a la diferente utilización de isómeros y dosis de CLA en ellos.

Las principales dosis utilizadas están entre 0.125 y 5% de la ración. La relación dosis-respuesta es importante porque muchos estudios han encontrado un incremento de respuesta según se incrementa la dosis de CLA (Delany *et al.*, 1999; Ostrowska *et al.*,

1999). En la **Tabla 4** se muestran los diversos experimentos realizados, con una gran variedad en el número de animales, pesos, duración etc.

Tabla 4. Resumen de experimentos en cerdos que utilizan CLA

	CERDOS (n°)	RANGO DE PESO (kg)		DURACION (d)	CLA (%)	PUREZA CLA (%)
		Inicial	Final			
King <i>et al.</i> (2004)	6	5.6	25.6	35	1.5	60
Demaree <i>et al.</i> (2002)	6	5.6	26	35	3	60
Smith <i>et al.</i> (2002)	6	5.6	25.6	35	1.5	60
Bee (2000b)	10	9.8	22	35	2	59
Ramsay <i>et al.</i> (2001)	7	20	55	48	0.25-0.5-1-2	67
Tischendorf <i>et al.</i> (2002)	40	23.5	114	131	2	54
Thiel Cooper <i>et al.</i> (2001)	8	26.3	116	90	0.2-0.42-0.83- 1.67	60
Wiegand <i>et al.</i> (2002)	23	28	115	95	1.25	60
Dugan <i>et al.</i> (2001) (2003)	35	36	115	83	0.25-0.5	65
O'Quinn <i>et al.</i> (2000)	20	33.4	118.7	85	0.25-0.5-1	69
Waylan <i>et al.</i> (2002)	36	45.5	114.6	60	0.5	66
Gatlin <i>et al.</i> (2002)	24	72	113	47	1	60
Ostrowska <i>et al.</i> (1999)	10	56.6	107	56	0.125-0.25- 0.5-0.75-1	55
Ostrowska <i>et al.</i> (2003)	5	57.2	106.2	56	0.125-0.25- 0.5-0.75-1	55
D'Souza <i>et al.</i> (2002)	72	60	105	42	0.5	?
Dugan <i>et al.</i> (1997) (1999)	54	61.5	106	45	2	50
Dunshea <i>et al.</i> (2002)	80	62	110	49	0-4	55
Bee (2001)	8	70	105	35	2	58.9
Migdal <i>et al.</i> (2004)	20	70	130	80	2	60
Eggert <i>et al.</i> (2001)	10	75	120	56	1	60
Joo <i>et al.</i> (2002)	5	77	105	28	1-2.5-5	91
Corino <i>et al.</i> (2003)	12	97	172	101	0.25-0.5	65
Martín <i>et al.</i> (2007)	8	70	107	53	0-1-2	56
Fernández-Figares <i>et al.</i> (2008)	5	20	50	54	0-1	60
Larsen <i>et al.</i> (2009)	8	55	113	56	0.75	60

2.2.4.3. Efecto sobre la salud: anticarcinogénico, hipocolesterolémico y antiteratogénico. Relación con el sistema inmune.

A partir del descubrimiento del efecto antimutagénico del CLA (Pariza *et al.*, 1979), se han llevado a cabo numerosos estudios en animales y voluntarios sanos para determinar las propiedades fisiológicas del CLA. En la mayoría de estudios se han utilizado una mezcla de los dos isómeros de CLA con actividad biológica *c9,t11*-CLA y *t10,c12*-CLA. Entre las propiedades atribuidas al CLA, cabe destacar el efecto anticancerígeno, antiaterogénico, la reducción de la grasa corporal, el incremento de masa muscular y muchos más que aparecen reflejados en la **Tabla 5**. Se considera que algunos efectos son específicos de un isómero determinado, mientras que otros se deben al efecto sinérgico de ambos.

Tabla 5. Principales efectos biológicos atribuidos al CLA (modificado de Pariza, 2004)

- Efecto anticancerígeno
- Mejora la función del sistema inmune y reduce los efectos catabólicos asociados a la respuesta inmune
- Reduce la inflamación
- Poder antioxidante
- Reduce el asma
- Reduce la arteriosclerosis
- Mejora el crecimiento y conversión en roedores
- Reduce engrasamiento
- Aumenta la masa muscular
- Reduce algunos síntomas de la diabetes
- Reduce la hipertensión

Los efectos anticarcinogénicos del CLA son quizás los mejor documentados y además están respaldados por estudios realizados en humanos. Dentro de los diferentes tipos de cáncer en los que se ha estudiado el efecto del CLA su acción sobre el cáncer mamario parece ser la más evidente. El CLA es más eficiente en su efecto de prevención de este

tipo de cáncer que el AO, el LA, el DHA y el EPA (Ip *et al.*, 1997). El primer estudio se llevó a cabo en mujeres finlandesas post-menopáusicas y demostró una correlación negativa entre el consumo de CLA, proveniente de la leche y el queso de consumo habitual en esta población, y el desarrollo de cáncer mamario (Aro *et al.*, 2000). Sin embargo, estudios posteriores no han encontrado relación entre la ingesta de CLA y el riesgo de padecer cáncer de mama. (Haro *et al.*, 2006). Sin embargo, el efecto anticancerígeno de CLA se ha demostrado in Vitro utilizando líneas celulares humanas de glándula mamaria, colon, próstata y estómago (Palombo *et al.*, 2002; Beppu *et al.*, 2006). De acuerdo con estos trabajos, el efecto preventivo parece ser dosis dependiente, y se ha podido establecer con rangos de aportes de CLA desde un 0.05% hasta un 2%. Estudios realizados por Pariza *et al.* (1999) demuestran que el isómero *c9,t11*-CLA, es el más activo como agente anticancerígeno.

El CLA muestra, además, efectos antimutagénicos, ya que inhibe la inducción de cáncer de piel en ratas producida por 7,12 trimetilbencil antraceno, un poderoso agente carcinogénico (Pariza *et al.*, 1985).

El mecanismo de los efectos inhibitorios que ejerce el CLA sobre el cáncer no son conocidos en la actualidad, por lo que las investigaciones apuntan a que podrían estar relacionados con la regulación del ciclo celular mediante la inhibición de la replicación celular, el incremento de la muerte celular mediante necrosis o apoptosis, la alteración del metabolismo lipídico y su acción a nivel de la expresión de ciertos tipos de mRNA que codifican para receptores de membrana involucrados en la transducción de señales, o en la traducción de receptores activados por proliferadores peroxisomales (PPARs) (Sébédio *et al.*, 1999). Sin lugar a dudas es un campo muy fértil de investigación que requiere de muchos más antecedentes experimentales.

Diversos estudios experimentales han permitido poner de manifiesto que el CLA disminuye los niveles plasmáticos de colesterol, con respuestas muy similares a las que se obtienen con los AG omega-3 (Nicolisi *et al.*, 1997). En hámsters alimentados con dietas que aportan 0,06% a 1,1% de CLA, con un aporte además de 1,1% de LA, se produce una disminución progresiva, en relación a la dosis de CLA, del colesterol-LDL, pero no del colesterol-HDL. Si bien el modelo de hámster es más similar al humano, en los últimos años el modelo de ratón ha sido el más utilizado, debido a su elevada susceptibilidad a desarrollar placas ateroscleróticas en estado avanzado (Mitchell y McLeod, 2008). También se han utilizado conejos, y se vio que la adición de tan solo 0,5 g/día de CLA a una dieta semisintética que aporta 14% de grasa, produce una

disminución significativa del colesterol-LDL y de los triglicéridos plasmáticos, produciendo al mismo tiempo una disminución de la relación colesterol-LDL/colesterol-HDL, y una disminución de la acumulación de placas ateroscleróticas en los grandes vasos (Lee *et al.*, 1994). En humanos los resultados son contradictorios y difíciles de interpretar. Un estudio reciente ha puesto de manifiesto que los isómeros *c9,t11*-CLA y *t10,c12*-CLA tienen un efecto opuesto sobre el perfil lipídico de personas con un peso normal. Así se ha visto que el isómero *t10,c12*-CLA podría ejercer efectos adversos sobre el aparato cardiovascular, sin embargo el isómero *c9,t11*-CLA disminuye el colesterol en sangre y por tanto tiene un efecto beneficioso (Tricon *et al.*, 2004, Haro *et al.*, 2006). La aterosclerosis es una alteración vascular, de elevada incidencia, que contribuye al incremento de la morbilidad y mortalidad cardiovascular. Los efectos del CLA sobre la aterosclerosis son muy contradictorios tanto en animales como en humanos. Las discrepancias entre estudios pueden atribuirse a variaciones en el modelo experimental utilizado, especie, dosis de CLA, duración del periodo de administración y metodología usada para determinar el grado de lesión.

El mecanismo de los efectos inhibitorios que ejerce el CLA sobre el colesterol, no se conocen hasta el momento. Podría ser que el CLA actúe como ligando de PPAR (Meadus *et al.*, 2002).

Interacción sistema inmunitario y CLA

Los efectos del CLA sobre el sistema inmunitario se han evaluado en cultivos celulares, modelos animales y ensayos clínicos. Las principales especies animales han sido ratón, rata y cerdo, aunque existen algunos estudios en conejos y perros. El CLA parece ejercer un estímulo que incrementa la síntesis de IgA, IgG, IgM y a la disminución significativa de los niveles de IgE, por lo cual se presume que el AG podría tener efectos favorables en la prevención y/o tratamiento de ciertas alergias alimentarias (Sugano *et al.*, 1998). Otros estudios realizados en cerdos con enfermedad inflamatoria intestinal muestran que el suplemento con un 2,21% de CLA (mezcla de los isómeros 50:50) disminuía el daño inflamatorio en las mucosas y disminuye la expresión de citocinas proinflamatorias, aumentaba la concentración de diversas interleuquinas en colon, a la vez que aumentaba la expresión de PPAR- γ , siendo más efectivo el isómero *t10,c12*-CLA que el *c9,t11*-CLA. (Hontecillas *et al.*, 2002; Bassaganya-Riera y Hontecillas., 2006).

Estudios similares han demostrado, en una relación dosis dependiente, que el CLA aumenta el nivel de linfocitos en el bazo de ratones y la secreción de IgG e IgM por parte de estas células (Hayek *et al.*, 1999). Bontempo *et al.* (2004), estudiaron los efectos del CLA sobre las variables inmunológicas en cerdas lactantes y su progenie y encontró un incremento de la IgG en el calostro. Bassaganya-Riera *et al.* (2001), realizaron estudios que se centraban en los efectos del CLA sobre las subpoblaciones linfocitarias en cerdos y vieron un aumento de linfocitos (Tc) y células NK en sangre, independientemente de la mezcla isomérica utilizada y el tiempo de suplementación.

Como se ha mencionado anteriormente, los dos isómeros de CLA con actividad biológica conocida son el *c9,t11*-CLA y *t10,c12*-CLA, y aunque a cada uno se le atribuyen propiedades fisiológicas específicas, pueden también actuar de forma sinérgica (Pariza *et al.*, 1986). No se dispone de suficiente información relativa al efecto particular de cada isómero sobre el sistema inmunitario ya que la mayoría de estudios han utilizado mezclas 50:50 de los dos isómeros, por lo que es difícil establecer el isómero responsable de los distintos efectos sobre el sistema inmune.

Las acciones sobre el sistema inmune atribuidas al CLA guardan estrecha relación con su efecto en la prevención del desarrollo de ciertos cánceres.

2.2.4.4. Efecto del CLA sobre la composición corporal

La acción reductora del contenido lipídico corporal atribuida al CLA, ha derivado en su creciente interés en la especie humana para el control de la obesidad. Aunque tiene interés potencial en otros modelos animales (fundamentalmente en animales de compañía), existen hasta el momento escasas publicaciones científicas con animales domésticos. No obstante, se incluye en la revisión bibliográfica de esta Tesis Doctoral porque los efectos metabólicos y celulares están profundamente relacionados con algunos aspectos de composición corporal y de la carne de gran interés en ganado porcino.

Existen un gran número de estudios, con modelos animales, entre ellos, rata, ratón, hámster y cerdo (Park *et al.*, 1997; Deckere *et al.*, 1999; Ostrowska *et al.*, 1999; Park y Pariza, 2007). Park *et al.* (1997) demostraron por primera vez, que la adición de un 0,5% de CLA (*c9,t11*-CLA y *t10,c12*-CLA; 50:50) en la dieta de ratones causaba disminución de la grasa corporal y aumento de la masa muscular, sin modificar su peso corporal. Estudios posteriores confirmaron los resultados referentes a la grasa y masa muscular corporal, pero además observaron la existencia de una pérdida de peso (West

et al., 1998; Bhattacharya *et al.*, 2006). West *et al.* (1998) realizaron un estudio con ratones que recibían dietas con distinto contenido en grasas (15 y 45 % de la energía de la ración) y suplementadas con 1 o 2% de CLA respectivamente observaron que existía una disminución de la ingestión de energía y del depósito de grasas en el tejido adiposo además de una disminución significativa del peso de los animales al cabo de seis semanas.

Estudios posteriores *in vitro* e *in vivo*, mostraron que el isómero *t*10,*c*12-CLA es el responsable de la reducción de grasa corporal (Pariza *et al.*, 2001; Park y Pariza 2007).

Los resultados obtenidos en cerdos son contradictorios, ya que muestran incremento, disminución, e incluso ausencia del efecto sobre la masa muscular, grasa y peso corporal (O'Quinn *et al.*, 2000; Thiel-Cooper *et al.*, 2001; Wiegand *et al.*, 2001; Ostrowska *et al.*, 2005; Martín *et al.*, 2007; Larsen *et al.*, 2009).

De todos los modelos animales estudiados, el de ratón es en el que se demuestran los mayores efectos de CLA. Los trabajos realizados con personas que presentan sobrepeso, o que son obesas, han demostrado que la ingestión diaria de 3.4 gramos de CLA produce una disminución de la masa grasa total sin afectar otros parámetros metabólicos, como el recuento eritrocitario y la cantidad de masa magra. Se han llevado a cabo diversos ensayos clínicos en personas en los cuales la cantidad de CLA ingerida varía desde 0,7 a 6,8 gramos al día (Sneddon *et al.*, 2008). Los resultados también son contradictorios, sin embargo, la mayoría demuestran que el CLA no modifica el peso corporal ni el índice de masa corporal (IMC), si bien, tiende a reducir la grasa corporal (Wahle *et al.*, 2004; Bhattacharya *et al.*, 2006; Park y Pariza., 2007).

Las diferencias observadas entre animales y humanos, pueden atribuirse entre otros factores, a la baja dosis de CLA utilizada en humanos. La dosis habitual en ratón es de 0.5% (p/p), lo que correspondería en humanos a 56g CLA/día/70kg que son incluso menores que las empleadas en ratón (Malpuech-Brugère *et al.*, 2004). Otro factor influyente podría ser las diferencias metabólicas entre ratón, y especie porcina y el ser humano, ya que el ratón tiene una elevada tasa de conversión lipídica, de ahí que el CLA sea más efectivo en esta especie.

Los trabajos realizados en ganado porcino para conocer los efectos del CLA sobre la productividad han obtenido resultados heterogéneos, debido probablemente a las diferencias en edades y pesos de los animales entre los experimentos. Existen estudios realizados con lechones (Demaree *et al.*, 2002; King *et al.*, 2004; Smith *et al.*, 2002; Bee, 2000b; Corino *et al.*, 2009), cerdos de cebo (Joo *et al.*, 2002; Tischendorf *et al.*,

2002; Thiel-Cooper *et al.*, 2001; Larsen *et al.*, 2009; Martín *et al.*, 2007, 2009) y reproductores (Bee, 2000a; Pietras *et al.*, 2002; Rossi *et al.*, 2004).

Hay diversos factores que pueden afectar a los resultados obtenidos como por ejemplo el genotipo. La mayoría de los trabajos revisados se han hecho en cerdos de genotipo magro, pero el trabajo realizado por Fernández-Fígares *et al.* (2009) se realizó con un genotipo graso (cerdo ibérico).

En los parámetros ganancia media diaria, ingestión media diaria de alimento y eficiencia de conversión de alimentos, los resultados no han sido consistentes cuando se comparan grupos de cerdos alimentados con una dieta control con otros alimentados con una dieta que incluye CLA (Tabla 6).

Tabla 6. Efecto de la inclusión del CLA en pienso sobre la ganancia media diaria, ingestión media diaria de alimento e índice de conversión expresado en cada caso en porcentaje respecto al grupo testigo son CLA

Referencia	Ganancia media diaria	Ingestión media diaria de alimento	Eficiencia de conversión
Bee (2001)	=	=	=
Dugan <i>et al.</i> (1997 y 1999)	=	↓ 5.2% (P=0.07)	↑ 5.9% (P=0.06)
Dugan <i>et al.</i> (2001)	=	=	=
Dunshea <i>et al.</i> (1998)	=	=	=
Eggert <i>et al.</i> (2001)	↓	=	=
Gatlin <i>et al.</i> (2002)	=	=	=
Lauridsen <i>et al.</i> (2005)	↑ (P=0.06)	=	↑ (P=0.01)
Ostrowska <i>et al.</i> (1999)	=	=	↑ 6.3% (P=0.009)
O'Quinn <i>et al.</i> (2000)	↑	=	=
Ramsay <i>et al.</i> (2001)	=	=	=
Sparks <i>et al.</i> (1999)	=	=	↑ (P<0.05)
Thiel-Cooper <i>et al.</i> (2001)	↑ (P<0.05)	=	↑ (P<0.05)
Wiegand <i>et al.</i> (2001)	=	=	↑ (P<0.05)

En los estudios realizados por Dunshea *et al.* (1998), Bee (2001), Dugan *et al.* (2001), Ramsay *et al.* (2001) y Gatlin *et al.* (2002) no se obtuvieron diferencias significativas. Sin embargo, Dugan *et al.* (1999) encontraron una disminución del 5,2 % (P=0.07) en la ingestión de alimento pero sin efecto en la ganancia media diaria sin embargo, encontraron una mejora del 5,9% en la eficiencia de conversión. Thiel-Cooper *et al.* (2001) no encontraron ningún efecto del CLA sobre la ingestión diaria de pienso, pero sí un incremento en la ganancia media diaria (P<0.05) y una mejora de la eficiencia de

conversión ($P < 0.05$). Lauridsen *et al.* (2005) también descubrieron un incremento en la eficiencia de conversión y una tendencia en la mejora de la ganancia media diaria ($P = 0.06$). Esta diferencia entre experimentos podría ser explicada por la diferente concentración de los isómeros, contenido de los diferentes nutrientes en la dieta, duración del experimento e incluso los diferentes genotipos usados.

2.2.4.5. Cantidad de grasa intramuscular y su relación con la incorporación de CLA en la ración

La grasa intramuscular es un indicador de la calidad de la carne puesto que proporciona sabor, consistencia, aroma y jugosidad a la misma (Fernández *et al.*, 1999). Son varios los factores que influyen en el engrasamiento de los animales y en particular sobre el ganado porcino, como por ejemplo la raza o tipo genético, la edad y la alimentación. La alimentación es uno de los factores más importantes que intervienen en el contenido y características de la grasa (canal e intramuscular) del cerdo. En concreto dos de sus principios nutritivos, los carbohidratos, principal componente energético de las dietas porcinas y las grasas, por su elevado contenido energético, ejercen un efecto evidente sobre el contenido y perfil de la grasa corporal del cerdo.

Se han realizado muchos trabajos (**Tabla 7**) sobre la posibilidad de modificar el contenido en grasa intramuscular con la utilización de diferentes tipos de grasa incluidos en la ración (Durán-Montgé *et al.*, 2008; Flachowsky *et al.*, 2008). La inclusión de grasa en la alimentación porcina presenta numerosas ventajas nutricionales como incrementar la concentración energética del pienso, reducir el estrés calórico y mejorar la eficacia del alimento. Asimismo, presenta ventajas tecnológicas como reducir la formación de polvo, mejorar el aspecto y la estructura del pienso, lo que mejora la palatabilidad y el consumo (Sanz *et al.*, 2000). En la producción porcina actual es preciso utilizar piensos con una alta concentración de nutrientes por lo que las grasas se añaden frecuentemente en las raciones en unas cantidades relativamente elevadas (4-6%).

La mayor parte de los trabajos coinciden en señalar que el nivel de grasa intramuscular o grasa de veteado, ejerce un efecto positivo sobre las características sensoriales u organolépticas de la carne de cerdo (Devol *et al.*, 1988; Fernández *et al.*, 1999; Mourot y Hermier, 2001). En concreto se ha observado un grado de correlación evidente entre la cantidad de grasa intramuscular y diferentes parámetros de la calidad de la carne de cerdo, representados por la terneza, la jugosidad, el flavour y la palatabilidad. La grasa contribuye a la jugosidad de la carne mejorando la lubricación del bolo alimenticio

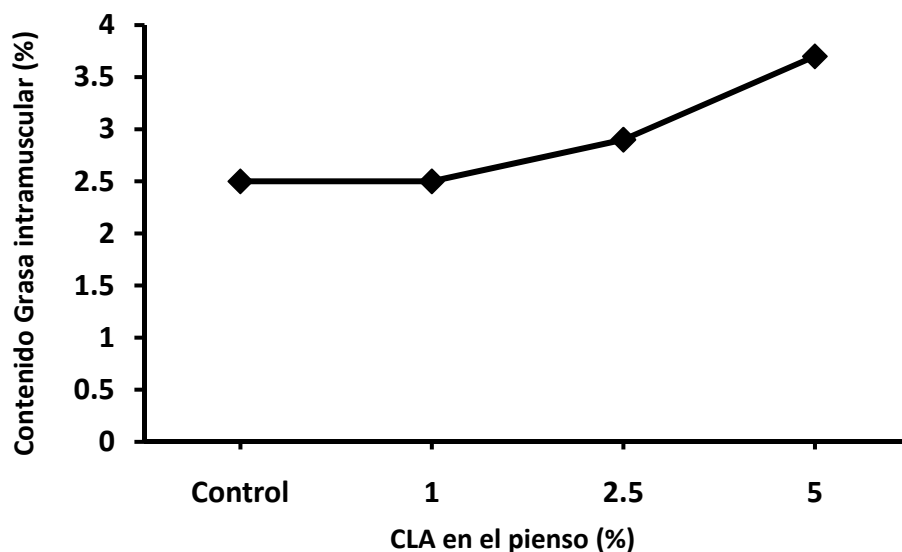
durante la masticación, evitando las pérdidas de agua durante el cocinado y estimulando la salivación. Del mismo modo, existe una relación entre el contenido de grasa intramuscular de la carne y su terneza y parece ser que dicha relación tiene que ver con la mejora de la jugosidad, con el efecto protector sobre las proteínas cárnicas durante el cocinado (disminuyendo su coagulación, y por lo tanto disminuyendo la dureza) y con una disminución global de la densidad de la carne.

Tabla 7. Efecto de las diversas dosis de CLA utilizadas sobre los parámetros de calidad de la carne del cerdo expresado en porcentaje sobre el grupo control sin CLA (GIM, % de grasa intramuscular).

REFERENCIA	DOSIS DE CLA (%)	GRASA SUBC	GIM (%)	MARMOREADO	FIRMEZA
Thiel-Cooper <i>et al.</i> (1998)	0.12	-18.2		0.0	4.6
	0.25	-18.2		5.8	-9.5
	0.50	-8.7		10.8	-12.2
	1	-10.1		-10.4	-27.9
Dugan y Aalhus (1999)	2.00		24.6	11.3	
O'Quinn <i>et al.</i> (2000)	0.50	-6.5		13.7	-0.9
Eggert <i>et al.</i> (2001)	1.00	-8.5			1.3
Wiegand <i>et al.</i> (2001)	0.75	-5.6	17.8	15.7	18.6
	0.75	-14.7	19.2	24.6	17.2
	0.75	-5.6	16.6	37.0	50.0
D'Souza y Mullan (2002)	0.50	-4.9	24.0		
	0.50	-4.3	-17.1		
Dunshea <i>et al.</i> (2002)	0.15	-6.8			
	0.18	-3.9			
Wiegand <i>et al.</i> (2002)	1.25	-14.5	9.5	6.9	-3.8
	1.25	-20.6	25.9	13.2	5.5
Gatlin <i>et al.</i> (2002)	1.00	-2.2		14.9	
	1.00	-2.0		35.3	
Tischendorf <i>et al.</i> (2002)	2.00	-7.4	4.1		
Joo <i>et al.</i> (2002)	1.00		-2.00		
	2.50		12.3		
	5.00		44.3		
Migdal <i>et al.</i> (2004)	2.00	-5.4	8.5		
Ostrowska <i>et al.</i> (2005)	0.13	-7.1	1.4	-5.3	14.9
	0.25	-17.8	-19.3	-2.6	2.1
	0.50	-17.4	-19.5	0.0	17.0
	0.75	-19.1	-10.5	2.6	2.1
	1.00	-23.7	-42.0	-10.5	10.6
Sun <i>et al.</i> (2004)	2.00	-5.8	12.5		
	4.00	-8.7	29.2		
Lauridsen <i>et al.</i> (2005)	0.50	-2.4	-5.8		
Martín <i>et al.</i> (2007)					
Larsen <i>et al.</i> (2009)	0.75				4.39 vs 7 cm

Durante las últimas décadas, la industria porcina se ha encaminado a producir canales con un elevado contenido en tejido magro y un bajo contenido en tejido adiposo. Puesto que el tejido adiposo es menos eficiente que el magro, y por tanto su desarrollo es más tardío, la elección del momento óptimo de sacrificio se ha situado a edades tempranas, en el punto en el que la acumulación magra es máxima, pero antes de que el engrasamiento sea excesivo. Además, la coincidencia de intereses del sector de la producción (el magro es mucho más barato de producir) con el de los consumidores (se paga mucho más dinero por el magro que por la grasa), ha provocado que durante décadas prácticamente todos los esfuerzos genéticos y de alimentación se hayan enfocado a disminuir la grasa e incrementar el magro (Mourot y Hermier, 2001). Sin embargo, dado que el contenido en grasa intramuscular se encuentra muy relacionado con el engrasamiento total de la canal (Kouba *et al.*, 1999), las acciones que se han llevado a cabo en los últimos años en producción porcina han provocado de modo colateral una disminución del contenido de grasa intramuscular, hasta niveles por debajo de lo mínimo deseable. En la bibliografía se encuentran indicaciones que señalan que para mantener los atributos de calidad, es preciso que la carne contenga al menos un 2% de grasa intramuscular (Bejerholm y Barton Gade, 1986). Devol *et al.* (1988) sugieren que un 2.5-3.0% de veteado en la carne es un nivel mínimo para mantener unas características de terneza y jugosidad aceptables, pero nuestras costumbres gastronómicas y la tradición en el procesado de la carne hacen que en nuestra área de producción se prefieran carnes con un contenido claramente superior, especialmente en carnes destinadas a la elaboración de derivados cárnicos. En el mismo sentido, recientes estudios basados en paneles sensoriales, han demostrado que para el consumidor el porcentaje ideal de grasa intramuscular en el *L. dorsi* del cerdo sería de un 3% (Fernández *et al.*, 1999; Mourot y Hermier, 2001). La cantidad de grasa aun cobra más importancia en los productos derivados del cerdo. En el caso concreto del jamón, producto que goza de gran tradición e importancia en nuestro país, es importante que posean una cantidad importante de grasa infiltrada. Esta grasa ayuda a que se produzca una penetración de sal y una deshidratación más lenta, con lo cual es posible alargar el período de maduración para poder obtener un jamón de calidad superior. Por otro lado, jamones extremadamente magros con frecuencia presentan una textura muy seca en los músculos superficiales y muy blanda en el interior del jamón, ya que se dificulta la pérdida de humedad durante el proceso del secado, y la calidad resultante es peor.

Figura 5. Porcentaje de grasa intramuscular en cerdos alimentados con distinto contenido de CLA en el pienso (Joo *et al.*, 2002)



2.2.4.6. Efecto del CLA en la composición de ácidos grasos de los tejidos animales

El efecto del CLA en el metabolismo de AG es un aspecto interesante en cerdos de cebo, al relacionarse con la calidad de la carne. Como se ha indicado anteriormente, las dietas con CLA pueden inducir cambios en la composición de AG en los animales (Aydin *et al.*, 2001).

Chouinard *et al.* (1999) demostraron que vacas que consumían 50-100g/día de CLA durante sólo 5 días producían leche con un incremento similar en el cociente C16:0/C16:1 y C18:0/C18:1. Cerdos alimentados con una mezcla de isómeros de CLA de 1 a 5 % tenían un incremento en de AGS y una disminución de AGMI en el tejido muscular (Joo *et al.*, 2002). Otras investigaciones llevadas a cabo por Bee (2000a) evidenciaron que cerdas reproductoras alimentadas con un 2% CLA durante 35 días, tenían más C16:0 (g/100g lípidos) y menos C18:1 en el tejido subcutáneo y también se incrementó el C16:0 y se redujo el C16:1 en la leche, comparándola con otras cerdas que no habían ingerido CLA. Du *et al.* (2001) observaron que dietas con CLA reducían el contenido de AGMI en la carne. En la última década la industria del cerdo ha hecho grandes esfuerzos para responder a las preferencias de los consumidores por desarrollar genotipos cerdos más magros y a la suplementación de dietas con mas fuentes de grasas insaturadas (Gatlin *et al.*, 2002). De todas formas el incremento en grasas insaturadas debe realizarse con extremo cuidado ya que en algunos casos (AA y

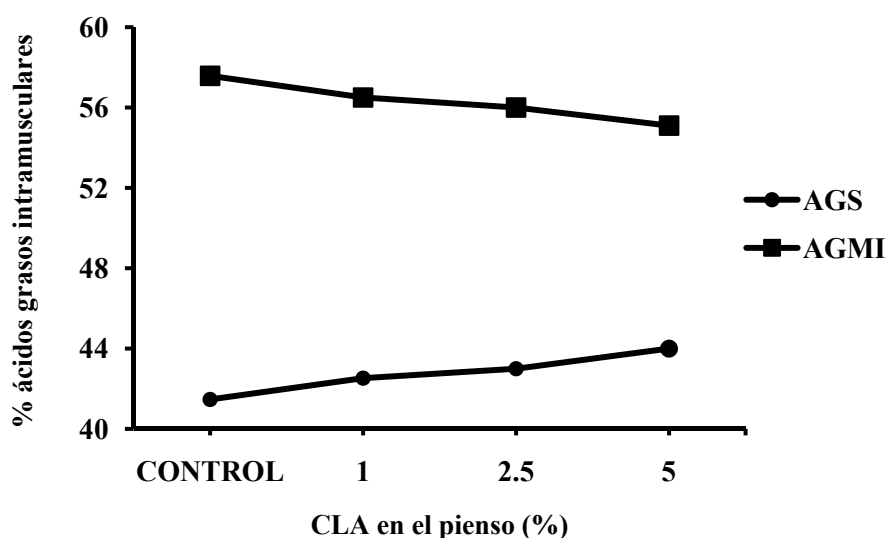
en general AGPI) una concentración excesiva es indeseable para el procesado de la carne ya que provoca distintos problemas asociados a la consistencia de la carne. La saturación de la grasa por las dietas con CLA puede dar solución a estos problemas así como reducir las pérdidas económicas debidas a la peor calidad de la carne.

Por otra parte, el incremento de AGS que produce el CLA, podría ser considerado como un efecto adverso desde el punto de vista del consumidor, ya que el consumo de AGS está asociado con hipercolesterolemia y problemas cardíacos (MacRae *et al.*, 2004). De todas formas y como ya se ha mencionado anteriormente, se necesitan más estudios que demuestren los efectos del CLA en humanos.

Por otra parte, debido a las amplias posibilidades que ofrece la alimentación animal para modificar la concentración de AG (Fontanillas *et al.*, 1998) el CLA también puede ser utilizado en la alimentación de animales monogástricos con el objetivo de enriquecer su concentración en los productos finales de ellos obtenidos (Ostrowska *et al.*, 2003).

El cerdo tiene una digestión donde predominan los fenómenos enzimáticos sobre los fermentativos. Además tiene un menor potencial de hidrogenación de AG y de producción de CLA. Consecuentemente, solo una pequeña cantidad de CLA se produce por la vía de biohidrogenación bacteriana, y la carne de cerdo normalmente contiene una cantidad limitada de CLA (0.1-0.2 mg/g AG). Por otra parte, debido a la escasa alteración microbiana de los AG ingeridos, el cerdo ofrece unas buenas posibilidades para el enriquecimiento de la carne en CLA mediante la incorporación del mismo en el pienso. La carne de los animales monogástricos, es el candidato ideal para su enriquecimiento mediante CLA sintético, puesto que el CLA sintético no será saturado antes de su absorción intestinal y se acumula en los tejidos con una relativa alta eficiencia. De esta forma la carne de porcino podría ser una fuente fisiológica de CLA para los seres humanos (Dugan *et al.*, 2004), aspecto este de gran interés en algunos países (como España) donde el consumo de carne de porcino es muy importante en relación a las especies rumiantes.

Figura 6. Efecto de la concentración de CLA (5% en el pienso) en la composición de ácidos grasos de la grasa intramuscular de cerdos desde los 77 hasta los 105kg de peso vivo (Joo *et al.*, 2002).



2.2.5. UTILIZACIÓN DE CLA EN CERDAS REPRODUCTORAS

2.2.5.1. Lactación: Características principales

Durante la gestación, la prolactina hipofisaria se encuentra inhibida por la progesterona y los estrógenos. Después del parto el estado hormonal cambia radicalmente; al caer bruscamente la concentración de hormonas esteroideas, la prolactina puede ejercer su función iniciándose la secreción láctea, en la cual están también involucradas la hormona del crecimiento, la hormona tirotrópica, la insulina y seguramente la relaxina (Cox *et al.*, 1987). Para que se produzca la eyección de la leche secretada se tiene que producir un mecanismo neuroendocrino que implica la succión del lechón y la descarga de oxitocina. El estímulo de succión de los lechones provoca un estímulo nervioso que accede vía médula espinal al hipotálamo provocando la liberación de oxitocina almacenada en la neurohipófisis. La oxitocina, pasa a la glándula mamaria vía hemática provocando la contracción de las células mioepiteliales de los alvéolos y la liberación de la leche.

La producción diaria de leche de cerda aumenta progresivamente desde el parto hasta la segunda o tercera semana de lactación disminuyendo progresivamente. De manera general, sin especificación del factor raza, la producción láctea en cerdas es de 3 a 8 kg diarios (Daza *et al.*, 1999) (**Tabla 8**).

La forma de la curva de lactación puede ser muy variable. Se considera que las cerdas buenas productoras, alcanzan el pico de lactación en la segunda semana y el resto alrededor en la tercera semana de lactación (Garst *et al.*, 1999). Las cerdas primíparas y las viejas suelen presentar curvas más irregulares.

Tabla 8. Evolución de la producción de leche de cerdas cruzadas (Daza *et al.*, 1999)

Periodo de lactación (días)	Producción de leche (kg/día)
0-4	3.11 ± 1.0
5-11	4.43 ± 1.2
12-18	6.26 ± 1.3
19-25	7.40 ± 0.9
26-32	8.14 ± 0.9

2.2.5.2. Componentes de la leche materna

El Código Alimentario Español define la leche como el producto íntegro no alterado, no adulterado y sin calostros, del ordeño higiénico, regular, completo e ininterrumpido de las hembras domésticas sanas y bien alimentadas. Desde un punto de vista más científico se define a la leche materna como un fluido corporal dinámico sintetizado en los lactocitos de la glándula mamaria que presenta variaciones en su composición a lo largo del día y del periodo de lactancia, y cuya composición está específicamente adaptada al crecimiento de los neonatos de cada especie (Wheeler *et al.*, 2007).

A lo largo del periodo de lactancia se distinguen dos tipos de secreción láctea, en función de su composición: calostro y leche madura. El calostro es la secreción inicial que se produce durante los primeros 1-2 días posparto. A continuación ya se produce leche madura. En comparación con la leche, el calostro contiene mayor concentración de proteínas (fundamentalmente IgA y lactoferrina), leucocitos y niveles inferiores de lactosa y lípidos.

Tabla 9. Composición química media (por 100 g) de la leche de cabra, oveja, vaca cerda y humana (Modificada de Martín 1984)

Nutrientes	Cabra	Oveja	Vaca	Cerda	Humana
Agua (%)	87-90	82-86	86-90	83-85	88-90
Proteína	3.5-3.9	5.4-5.8	3-3.8	5.5-6	1.2-1.7
Lactosa	4.2-4.8	4.3-4.7	4.7-5.2	4-5	6.5-7
Grasa	3.9-4.1	6.5-10	3-4.4	5-6.5	3.5-3.8
Cenizas	0.8-1	0.9-1.2	0.7-0.9	1.1-1.3	0.2-0.3

En la **Tabla 9** se puede apreciar la composición química de la leche de algunos animales domésticos. La leche de cerda es rica en energía y proteínas comparada con la de vaca. La leche de cabra y vaca son las más equilibradas en proteína, grasa y lactosa con unos valores similares a la leche humana. Excluyendo el agua, los componentes cuantitativamente más importantes son la grasa, la proteína y la lactosa. Además se aprecia que a pesar de lo variable de las diferentes fracciones entre especies, la lactosa es el constituyente más estable (McDonald *et al.*, 1999) y que la proteína y la grasa aumentan o disminuyen a la vez, pero ambas evolucionan en sentido contrario a la cantidad de leche producida.

En cuanto a la síntesis de los distintos componentes de la leche, casi todas las proteínas se sintetizan en la glándula mamaria a partir de los aminoácidos transportados por la sangre, excepto algunas globulinas que proceden directamente del suero sanguíneo y aparecen principalmente en el calostro proporcionando inmunidad. Los hidratos de carbono y las grasas se sintetizan a partir de los ácidos grasos volátiles en los rumiantes y a partir de la glucosa en monogástricos. A pesar de lo nutritiva que es la leche de la cerda, esta carece de un nutriente muy importante, el hierro y unido a que el lechón nace con muy pocas reservas corporales de hierro, es frecuente la aparición de anemia en los primeros días de vida de los lechones.

El contenido proteico en la leche varía a lo largo de la lactancia. Los aminoácidos de la sangre son los principales precursores de la proteína de la leche, si bien pequeños péptidos pueden también participar (McDonald *et al.*, 1999), produciéndose la síntesis láctea en las células alveolares de la glándula mamaria. Además tiene lugar una notable interconversión entre aminoácidos antes de que tenga lugar la síntesis, siendo importantes algunos aminoácidos como fuente de otros.

Los carbohidratos aportan el 20-25% del contenido calórico de la leche materna. El principal carbohidrato presente en la leche es la lactosa, disacárido compuesto por una molécula de β -D-Glucosa y β -D-Galactosa mediante un enlace β -(1-4), teniendo un grupo reductor activo. Es menos soluble y menos dulce que la sacarosa. Se produce en la glándula mamaria casi totalmente a partir de glucosa, aunque una pequeña cantidad se obtiene de acetato y glicerol (McDonald *et al.*, 1999). La lactosa además de cumplir una función nutritiva, interviene en la absorción de calcio, magnesio y manganeso (Picciano, 2001).

La grasa es la fracción mayoritaria de la leche y constituye la principal fuente de energía para el lactante (60-65% del total). La grasa de la leche es principalmente una mezcla de triacilglicerol que contienen una gran variedad de AGS y AGMI. Dentro de los AGS predomina el C16:0 y entre los AGMI están constituidos principalmente por C18:1, con pequeñas cantidades de C18:2n-6 y C18:3n-3. Además se caracterizan por la existencia de AG de cadena corta, media y larga (McDonald *et al.*, 1999).

Diversos estudios indican que la adición de grasas en la alimentación de las cerdas durante la gestación o lactación incrementa la producción de leche y el contenido en grasa del calostro y la leche (Pettigrew, 1981), pudiendo mejorar la supervivencia (Moser y Lewis, 1980) la ganancia media diaria de los lechones (Tilton *et al.*, 1999) y la pérdida de condición corporal de las cerdas durante la lactación (Kornblum *et al.*, 1991).

2.2.5.3. Composición de Calostro.

El calostro es la primera secreción producida por la glándula mamaria después del parto. Las características fundamentales del calostro son las siguientes:

- Es rico en anticuerpos maternos; de esta manera el recién nacido adquiere defensas contra los gérmenes presentes en el ambiente de la sala de partos.
- Posee un valor nutricional elevado.

Por lo tanto, el calostro es el alimento primordial en el recién nacido dentro de sus primeras horas de vida (existe una correlación directa entre la ingestión de calostro y la supervivencia en las primeras 48-72 horas de vida del lechón) (Noblet y Etienne 1987). Por lo tanto, la práctica creciente de lactación alternativa no debe ir en contra de una ingestión precoz de calostro. Diversos trabajos muestran que la cantidad de anticuerpos maternos recibidos por el lechón dependen, ante todo, de la precocidad de la ingestión del calostro (Le Dividich *et al.*, 2005).

Los niveles de inmunoglobulinas en el calostro son muy elevados durante las primeras 5 horas de vida de los lechones (por encima de los 40mg/mL de IgG) para bajar a concentraciones entre 30 y 10mg/mL entre las 6 y 24h respectivamente.

Los niveles de inmunoglobulinas en el suero de los lechones son más elevados durante las 9 horas siguientes a la ingesta de calostro (Le Dividich *et al.*, 2005), debido a los niveles elevados de inmunoglobulinas en el calostro y a la mayor permeabilidad intestinal del lechón en esas primeras horas de vida. Sin embargo, esta permeabilidad disminuye durante las siguientes horas de vida, probablemente regulado por el pico de insulina que se produce por el incremento de glucemia provocado por la lactosa del calostro (Riopérez *et al.*, 2000).

La composición nutritiva del calostro varía con respecto a la de la leche. Los niveles de sólidos totales y proteína del calostro son superiores a los de la leche, siendo inferiores los de lactosa, grasa y cenizas. Dichos cambios en la composición reflejan la transición en la secreción mamaria desde los primeros a los segundos estadios de la lactogénesis. (Tabla 10).

Tabla 10. Diferencias en la composición de nutrientes en el calostro y en la leche de la especie porcina (g/kg) (Darragagh A.J. y Moughan P.J., 1998)

Nutriente	Calostro	Leche
Agua	752	813
Grasa	59.0	76.0
Lactosa	34.0	53.0
Proteínas	151	55.0
Cenizas	7.0	9.0

La caseína proporciona aminoácidos que se utilizan por el lechón fundamentalmente para la síntesis proteica. Además, la caseína participa en el transporte de calcio. Otra fuente de proteína es la proteína sérica que contiene las diferentes albúminas y además participa en el transporte de vitaminas liposolubles y ciertos reguladores fisiológicos (hormonas y factores del crecimiento). Dicha proteína supone el 90% de toda la proteína del calostro (Tabla 11).

Tabla 11. Distribución del contenido de proteína en el calostro y en la leche de la especie porcina (expresado como porcentaje de la proteína total)

Nutriente (%)	Calostro	Leche
Caseína	8,8	47,3
Proteína sérica	91,0	52,6
-Seroalbúminas	9,7	8,2
-IgG	59,0	1,6
-IgA	13,1	11,7
-IgM	5,6	2,7
-Otras	3,6	28,4
Nitrogeno no proteico	0,11	0,14
Total	100	100

Los niveles de grasa del calostro son inferiores a los de la leche, pasando de 5,3% del primero al 13% al tercer día de lactación. No obstante, el contenido graso de la leche es variable durante la lactación en ganado porcino, alcanzando durante las últimas etapas un valor medio del 6,5%. Los AG que se encuentran en mayor nivel tanto en calostro como en leche son el C18:1, C18:2, C16:0 y C18:0, suponiendo entre el 85-90% del total. Es interesante destacar también que los niveles de carnitina del calostro son elevados (370 nmol/mL).

También los niveles de vitaminas y minerales son diferentes en el calostro que en la leche, teniendo mayor concentración de vitaminas el primero (**Tabla 12**).

Tabla 12. Contenido de vitaminas y minerales en el calostro y en la leche de la especie porcina

Nutriente	Calostro	Leche
Vitamina A (µg/mL)	1,7	1,0
Vitamina D (µg/mL)	1500	9300
Vitamina E (µg/mL)	3,8	2,6
Vitamina K (µg/mL)	95.000	92.000
Vitamina C (µg/mL)	72	47
Calcio (mg/mL)	0,71	1,84
Fósforo (mg/mL)	1,05	1,39
Hierro (mg/mL)	1800	2300
Zinc (mg/mL)	16.200	6300
Cobre (mg/mL)	3900	1300
Sodio (mg/mL)	0,71	0,43

Tabla 13. Contenido en ácidos grasos de la leche de distintas especies animales (modificada Edelsten, 1988)

Ácidos grasos					
Saturados:	Humana	Vaca	Cerda	Oveja	Cabra
Butírico	0,4	3,1		4,0	3,9
Caproico	0,1	1,0		3,0	3,2
Caprílico	0,3	1,2		2,8	2,3
Cáprico	0,3	1,2	0,2	7,6	8,0
Láurico	5,8	2,2	0,3	4,3	3,1
Mirístico	8,6	10,5	3,0	10,5	10,3
Palmitico	22,6	26,3	28	29,7	32,5
Estearico	7,7	13,2	6,0	12,6	10,1
Arachidónico	1,0	1,2		0,6	0,4
Instaturados:					
Oleico	36,4	32,3	35	24,9	19,4
Linoleico	8,3	1,6	14	3,2	2,8
Linolenico	0,4	1,5	<1	1,3	0,6
- C22-20	4,2	1,0			0,4

2.2.5.4. CLA en calostro y leche

Los lechones recién nacidos tienen una escasa reserva energética y son altamente sensibles al frío, por eso un suficiente aporte de leche es fundamental para evitar su muerte (Pettigrew, 1981).

El consumo de CLA durante la lactación incrementa la concentración de CLA en la leche de las ratas (Chin *et al.*, 1994), vacas (de Veth *et al.*, 2004) y cerdas (Bee, 2000a). En las vacas de leche, la inclusión del CLA en la dieta, altera la composición de AG de la leche y produce un descenso en su contenido graso (Chouinard *et al.*, 1999, Looor y Herbein., 1998). La comparación de la composición de la leche de los rumiantes con la de las cerdas, se observa una gran diferencia en el contenido en AG de cadena corta (Tabla 13).

Además la utilización de CLA en los piensos de cerdas reproductoras aporta beneficios desde un punto de vista reproductivo. El CLA mejora la sensibilidad a la insulina (Houseknecht *et al.*, 1998) teniendo un efecto doblemente positivo. Primero por la relación existente entre la insulina y niveles de LH/FSH que determinan en cierta manera el nivel de ovulación de las cerdas durante su celo. En segundo lugar, por el efecto que tiene también la insulina sobre los niveles de progesterona y la capacidad de mantener la viabilidad de los óvulos fecundados, es decir, aumentar la supervivencia embrionaria. Además en el último tercio de la gestación, es importante no sólo porque

regula el peso al nacimiento de los lechones sino porque la inclusión de CLA en dietas de reproductoras aumenta la cantidad y calidad de calostro, dando mayor protección inmunitaria a los lechones, tan importante en situaciones donde la presión de infección o los agentes patógenos se hacen muy agresivos.

Por tanto el lechón debe enfrentarse con los siguientes desafíos para utilizar de forma eficiente su alimento materno:

- a) Debido al alto contenido en grasa de la leche de cerda, los lechones se ven obligados a utilizar los ácidos grasos como fuente de energía.
- b) Los ácidos grasos de cadena media o larga (del palmítico para arriba, incluyendo el propio palmítico), se utilizan muy mal para producción de energía. Entre otras cosas, deben introducirse en la mitocondria para beta-oxidarse. A diferencia de los rumiantes (que tienen AG de cadena corta), la leche de la cerda tiene una gran cantidad de AG de cadena media y larga, por lo que es esperable que haya grandes dificultades para su utilización metabólica.

La composición de AG del calostro y de la leche depende del tipo de grasa suplementada por la dieta (Pettersen y Opstvedt., 1991, Lauridsen *et al.*, 2004), así como la acumulación de CLA en los tejidos de los animales depende entre otras cosas de la dosis administrada, del periodo de administración y la composición de AG (López Bote *et al.*, 2004). Es posible que el CLA (que es un potente regulador metabólico) pueda facilitar el metabolismo de AG de la leche.

Los estudios realizados hasta el momento sobre incorporación de CLA en el pienso de las reproductoras se han centrado en el efecto que posee sobre la cantidad de grasa presente en calostro y leche y en la modificación del perfil de ácidos grasos (Bontempo *et al.*, 2004; Poulos *et al.*, 2004). Si bien los resultados de estos experimentos parecen claros, los efectos sobre las cerdas y los lechones son más variables, ya que no se han observado aspectos como la modificación en la condición corporal o un efecto positivo en la regulación metabólica de la cerda (Barbinszky *et al.*, 1992) y su progenie (Boyd *et al.*, 1982). Por tanto, se necesitan más estudios para evaluar el efecto del CLA en la regulación metabólica tanto de la producción y la calidad de la leche de las cerdas, como el efecto que puede tener en su progenie.

2.3. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ackman, R.G., Eaton, C.A., Sipos, J.C., Crewe, N.F. 1981. Origin of cis-9, trans-11 and trans-9, trans 11-octadecadienoic acid in the depot fat of primates fed a diet rich in lard and corn oil and implications for the human diet. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.* 14, 103-107.
- Adams, V.L., Gilbert, C.D., Mersmann, H.J., Smith, S.B. 2001. Conjugated linoleic acid depresses DNA synthesis in porcine preadipocytes. *FASEB J.* 15, A300.
- Adlof, R. O., Duval, S., Emken, E. A. 2000. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in humans. *Lipids* 35, 131-135.
- Ailhaud, G. 1982. Adipose cell differentiation in culture. *Mol. Cell. Biochem.* 49, 17-31.
- Ailhaud, G. 1996. Early adipocyte differentiation. *Biochem. Soc. Trans.* 24, 400-402.
- Ailhaud, G., Grimaldi, P., Négrel, R. 1992. Cellular and molecular aspects of adipose tissue development. *Annu. Rev. Nutr.* 12, 207-233.
- Akahoshi, A., Goto, Y., Murano, K., Miyazaki, T., Yamasaki, M., Nonaka, M., Yamada, K., Sugano, M. 2002. Conjugated linoleic acid reduces body fats and cytokine levels of mice. *Biosci. Biotech. Bioch.* 66, 916-920.
- Aro, A., Mannisto, S., Salminen, I., Ovaskainen, M.L., Kataja, V., Uusitupa, M. 2000. Inverse association between dietary and serum conjugated linoleic acid and risk of breast cancer in postmenopausal women. *Nutr. Cancer* 38, 151-157.
- Aydin, R., Pariza, M.W., Cook, M.E. 2001. Olive oil prevents the adverse effects of dietary conjugated linoleic acid on chick hatchability and egg quality. *J. Nutr.* 131, 800-806.

- Banni, S., Carta, G., Angioni, E., Murru, E., Scanu, P., Melis, M.P., Bauman, D.E., Fischer, S.M., Ip, C. 2001. Distribution of conjugated linoleic acid and metabolites in different lipid fractions in the rat liver. *J. Lipid Res.* 42, 1056-1061.
- Barbinszky, L., Verstegen, M.W.A., den Hartog, L.A., Zandstra, T., van der Togt, P.L. 1992. Effect of dietary fat and α -tocopherol level in the lactation diet on the performance of primiparous sows and their piglets. *Anim. Prod.* 55, 233-240.
- Bassaganya-Riera, J., Hontecillas, R. 2006. CLA and n-3 PUFA differentially modulate clinical activity and colonic PPAR-responsive gene expression in a pig model of experimental IBD. *Clin. Nutr.* 25, 454-465.
- Bassaganya-Riera, J., Hontecillas-Magarzo, R., Bregendahl, K., Wannemuehler, M.J., Zimmerman, D.R. 2001. Effects of dietary conjugated linoleic acid in nursery pigs of dirty and clean environments on growth, empty body composition, and immune competence. *J. Anim. Sci.* 79, 714-721.
- Bauman, D.E., Baumgard, L.H., Corl, B.A., Griinari, J.M. 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants. In *Proceedings of the American Society of Animal Science*. [http:// www.asas.org/jas/symposia/proceedings/0937.pdf](http://www.asas.org/jas/symposia/proceedings/0937.pdf)
- Baumgard, L.H., Corl, B.A., Dwyer, D.A., Saebo, A., Bauman, D.E. 2000. Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 278, R179-184.
- Baumgard, L.H., Sangster, J.K., Bauman, D.E. 2001. Milk fat synthesis in dairy cows is progressively reduced by increasing supplemental amounts of trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid (CLA). *J. Nutr.* 131, 1764-1769.
- Bee, G. 2000a. Dietary conjugated linoleic acids alter adipose tissue and milk lipids of pregnant and lactating sows. *J. Nutr.* 130, 2292-2298.
- Bee, G., 2000b. Dietary conjugated linoleic acid consumption during pregnancy and lactation influences growth and tissue composition in weaned pigs. *J. Nutr.* 130, 2981-2989.

- Bee, G. 2001. Dietary conjugated linoleic acids affect tissue lipid composition but not *de novo* lipogenesis in finishing pigs. Anim. Res. 50, 383-399.
- Bejerholm, C., Barton-Gade, P.A. 1986. Effect of intramuscular fat level of eating quality of pig meat. Proceedings of the 32nd European meeting of meat research Workers. Ghent, Belgium, pp. 387-391.
- Belury, M.A., Kempa-Steczko, A. 1997. Conjugated linoleic acid modulates hepatic lipid composition in mice. Lipids, 32, 199-204.
- Belury, M.A., Van den Heuvel, J.P. 1999. Modulation of diabetes by conjugated linoleic acid. Yurawecz, M. P. Mossoba, M. M. Kramer, J.K.G. Pariza, M. W. Nelson, G. J. eds. Advances in Conjugated Linoleic Acid Research 1, 404-411 AOCS Press Champaign, IL.
- Benjamin, S., Spener, F. 2009. Conjugated linoleic acids as functional food: an insight into their health benefits. Nutr. Metab. 6, 36.
- Beppu, F., Hosokawa, M., Tanaka, L., Kohno, H., Tanaka, T., Miyashita, K. 2006. Potent inhibitory effect of trans9, trans 11 isomer of conjugated linoleic acid on growth of human colon cancer cells. J. Nutr. Biochem. 17, 830-836.
- Bessa, R.J.B., Santos-Silva, J., Ribeiro, J.M.R., Portugal, AV. 2000. Retículo-Rumen biohydrogenation and the enrichment of ruminant edible products with linoleic acid conjugated isomers. Livestock Prod. Sci. 63, 201-211.
- Bhattacharya, A., Banu, J., Rahman, M., Causey, J., Fernandes, G. 2006. Biological effects of conjugated linoleic acid in health and disease. J. Nutr. Biochem. 17, 789-810.
- Bontempo, V., Sciannimanico, D., Pastorelli, Grazia., Rossi, R., Rosi, F., Corino, C. 2004. Dietary conjugated linoleic acid positively affects immunologic variables in lactating sows and piglets. J. Nutr. 134, 817-824.
- Booth, R.G., Kon, S.K., Dann, W.J., Moore, T. 1935. A study of seasonal variation in butter fat. II. A seasonal spectroscopic variation in the fatty acid fraction. Biochem. J. 29, 133.

- Boyd, R.D., Moser, B.D., Peo Jr, E.R., Lewis, A.J., Johnson, R.K. 1982. Effect of tallow and choline chloride addition to the diet of sows on milk composition, milk yield and preweaning pig performance. *J. Anim. Sci.* 54, 1-7
- Brodie, A.E., Manning, V.A., Ferguson, K.R., Jewell, D.E., Hu, C.Y. 1999. Conjugated linoleic acid inhibits differentiation of pre- and post- confluent 3T3-L1 preadipocytes but inhibits cell proliferation only in preconfluent cells. *J. Nutr.* 129, 602-606.
- Brooks, C.C. 1971. Fatty acid composition of pork lipids as affected by basal diet, fat source and fat level. *J. Anim. Sci.* 33, 1224-1231.
- Brouns, F., Vusse, G.J. 1998. Utilisation of lipids during exercise in human subjects: Metabolic and dietary constraints. *Br. J. Nutr.* 79, 117-128.
- Brown, J.M., Boysen, M.S., Jensen, S.S., Morrison, R.F., Storkson, J., Lea-Currie, R. 2003. Isomer specific regulation of metabolism and PPAR gamma signaling by CLA in human preadipocytes. *J. Lipid Res.* 44, 1287-1300
- Brown, J.M., Halvorsen, Y.D., Lea-Currie, Y.R., Geigerman, C., McIntosh, M. 2001. Human preadipocyte differentiation is influenced by seeding density, thiazolidinediones, and conjugated linoleic acid. *FASEB J.* 15, A996.
- Calder, F. 2002. Fatty acid inflammation and immunity in Nutrition and immune function. Edited by Calder PC, Field CJ, Gill HS (2002) CABI Publishing. New York. ISBN: 0-85199-583-7, pp 57-92.
- Cao, Z.R., Umek, M., Mcknight, S.L. 1991. Regulated expression of three C/EBP isoforms during adipose conversion of 3T3-L1 cells. *Genes and Development* 5, 1538-1552.
- Chin, S. F., Storkson. J. M., Albright. K. J., Cook, M. E., Pariza M. W. 1994. Conjugated linoleic acid is a growth factor for rats as shown by enhanced weight gain and improved feed efficiency. *J. Nutr.* 124, 2344-2349.

- Chin, S.F., Liu, W., Storkson, J.M., Ha, Y.L., Pariza, M.W. 1992. Dietary sources of conjugated dienoic derivatives of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogenesis. *J. Food Compos. Anal.* 5, 185-197.
- Choi, J.S., Jung, M.H., Park, H.S., Song, J. 2004. Effect of conjugated linoleic acid isomers on insulin resistance and mRNA levels of genes regulating energy metabolism in high-fat-fed rats. *Nutr.* 20, 1008-1017.
- Chouinard, P.Y., Corneau, L., Barbano, D.M., Metzger, L.E., Bauman, D.E. 1999. Conjugated linoleic acids alter milk fatty acid composition and inhibit milk fat secretion in dairy cows. *J. Nutr.* 129, 1579-1584.
- Christie, W.W., Dobson, G., Gunstone, F.D. 1997. Isomers of commercial samples of conjugated linoleic acid. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 74, 1231.
- Corino, C., Magni, S., Pastorelli, G., Rossi, R., Mourot, J. 2003. Effect of conjugated linoleic acid on meat quality, lipid metabolism, and sensory characteristics of dry-cured hams from heavy pigs. *J. Anim. Sci.* 81, 2219-2229.
- Corino, C., Pastorelli, G., Rosi, F., Bontempo, V., Rossi, R. 2009. Effect of dietary conjugated linoleic acid supplementation in sows on performance and immunoglobulin concentration in piglets. *J. Anim. Sci.* 87, 2299-2305.
- Corl, B.A., Baumgard, L.H., Dwyer, D.A., Griinari, J.M., Phillips, B.S., Bauman, D.E. 2001. The role of D9-desaturase in the production of cis-9, trans-11 CLA. *J. Nutr. Biochem.* 12, 622-630.
- Cox, N.M., Stuart, M.J., Althen, T.G., Bennett, W.A., Miller, H.W. 1987. Enhancement of ovulation rate in gilts by increasing dietary energy and administering insulin during follicular growth. *J. Anim. Sci.* 64, 507-516.
- D'Souza, D.N., Mullan, B.P. 2002. The effect of genotype, sex and management strategy on the eating quality of pork. *Meat Sci.* 60, 95-101.

- Darragh, A.J.Y., Moughan, P.J. 1998. The composition of colostrum and milk. en: M.W.A. Verstegen, P.J. Moughan and J.W. Schrama. The lactating sow. ed, Wageningen press.
- Daza, A., Riopérez, J., Centeno, C., Ovejero, I., de Alba, C. 1999. Producción de leche y composición de la leche de cerdas primíparas Duroc cubiertas precozmente. ITEA 20, 762-764.
- De Deckere, E.A., van Amelsvoort, J.M., McNeill, G.P., Jones, P. 1999. Effects of conjugated linoleic acid (CLA) isomers on lipid levels and peroxisome proliferation in the hamster. Br. J. Nutr. 82, 309-317.
- De Smet, S., Raes K., Demeyer, D. 2004. Meat fatty acid composition as affected by fatness and genetic factors: a review. Meat Sci. 53, 81-98.
- de Veth, M.J., Griinari, J.M., Pfeiffer, A.M., Bauman, D.E. 2004. Effect of CLA on milk fat synthesis in dairy cows: Comparison of inhibition by methyl esters and free fatty acids and relationships among studies. Lipids 39, 365-372.
- Delany, J.P., Blohm, F., Truett, A.A., Scimeca, J.A., West, D.B. 1999. Conjugated linoleic acid rapidly reduces body fat content in mice without affecting energy intake. Am. J. Physiol. 276, R1172-1179.
- Demaree, S.R., Gilbert, C.D., Mesmann, H.J., Smith, S.B. 2002. Conjugated linoleic acid differentially modifies fatty acid composition in subcellular fractions of muscle and adipose tissue but not adiposity of postweaning pigs. J. Nutr. 132, 2372-2379.
- Devol, D.L., McKeith, F.K., Bechtel, P.J., Novakofski, J., Shanks, R.D., Carr, T.R. 1988. Variation in composition and palatability traits and relationships between muscle characteristics and palatability in a random sample of pork carcasses. J. Anim. Sci. 66, 385-395.
- Dhiman, T.R., Nam, S., Ure, A.L. 2005. Factors affecting conjugated linoleic acid content in milk and meat. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 45, 463-482.

- Doerrler, W., Feingold, K. R., Grunfeld, C. 1994. Cytokines induce catabolic effects in cultured adipocytes by multiple mechanisms. *Cytokine* 6, 478-484.
- Du, M., Ahn, D.U., Nam, K.C., Sell, J.L. 2001. Volatile profiles and lipid oxidation of irradiated cooked chicken meat from laying hens fed with diets containing conjugated linoleic acid. *Poultry Sci.* 80, 235-241.
- Dugan, M.E.R., Aalhus, J.L., Schaefer, A.L., Kramer, J.K.G. 1997. The effect of conjugated linoleic acid on fat to lean repartitioning and feed conversion in pigs. *Can. J. Anim. Sci.* 77, 723-725.
- Dugan, M.E.R., Aalhus, J.L., Jeremiah, L.E., Kramer, J.K.G., Schaefer, A.L. 1999. The effects of feeding conjugated linoleic acid on subsequent pork quality. *Can. J. Anim. Sci.* 45-51.
- Dugan, M.E.R., Aalhus, J.L., Lien, K.A., Schaefer, A., Kramer, J.K.G. 2001. Effects of feeding different levels of conjugated linoleic acid and total oil to pigs on live animal performance and carcass composition. *Can. J. Anim. Sci.* 81, 505-510.
- Dugan, M.E.R., Aalhus, J.L., Rolland, D.C., Jeremiah, L.E. 2003. Effects of feeding different levels of conjugated linoleic acid and total oil to pigs on subsequent pork quality and palatability. *Can. J. Anim. Sci.* 83, 713-720.
- Dugan, M.E.R., Aalhus, J.L., Kramer, J.K.G. 2004. Conjugated linoleic acid pork research. *Anim. J. Clinic. Nutr.* 79, 1212S-1216S.
- Dunshea, F.R., Ostrowska, E., Luxford, B., Smits, R.J., Campbell, R.G., D'Souza, D.N., Mullan, B.P. 2002. Dietary conjugated linoleic acid can decrease backfat in pigs housed under commercial conditions. *Asian Australasian J. Anim. Sci.* 15, 1011-1017.
- Dunshea, F.R., Ostrowska, E., Muralitharan, M., Cross, R., Bauman, D.E., Pariza, M.W., Skarie, C. 1998. Dietary conjugated linoleic acid decreases back fat in finisher gilts. *J. Anim. Sci.* 76, 131.

- Durán-Montge, P., Realini, C.E., Barroeta, A.C., Lizard, R., Esteve-García, E. 2008. Tissue fatty acid composition of pigs fed different fat sources. *Animal* 2, 1753-1762.
- Edelsten, D. 1988. Composition of milk. Ch. 6 in *Meat Science, Milk Science and Technology*, H.R. Cross and A.J. Overby (Ed.), pp. 175-199. Elsevier Science Publishing Company Inc., New York.
- Eggert, J.M., Belury, M.A., Kempa-Steczko, A., Mills, S.E., Schinckel, A.P. 2001. Effects of conjugated linoleic acid on the belly firmness and fatty acid composition of genetically lean pigs *J. Anim. Sci.* 79, 2866-2872.
- Enser, M. 1984. The chemistry, biochemistry and nutritional importance of animal fats. En: *Fats in animal nutrition*, pp. 23-52. Wiseman, J. (ed.) Butterworths Londres, UK.
- Evans, M., Geigerman, C., Cook, J., Curtis, L., Kuebler, B., McIntosh, M. 2000. Conjugated linoleic acid suppresses triglyceride accumulation and induces apoptosis in 3T3-L1 preadipocytes. *Lipids* 35, 899-910.
- Evans, M., Park, Y., Pariza, M., Curtis, L., Kuebler, B., McIntosh, M. 2001. Trans-10,cis-12 conjugated linoleic acid reduces triglyceride content while differentially affecting peroxisome proliferator activated receptor gamma2 and aP2 expression in 3T3-L1 preadypocytes. *Lipids* 36, 1223-1232.
- Fernández, X., Monin, G., Talmant, A., Mourot, J., Lebret, B. 1999. Influence of intramuscular fat content on the quality of pig meat. Composition of the lipid fraction and sensory characteristics of m. *Longissimus lumborum*. *Meat Sci.* 53, 59-65.
- Fernandez-Figares, I., Conde-Aguilera, J.A., Nieto, R., Lachica, M., Aguilera, J.F. 2008. Synergistic effects of betaine and conjugated linoleic acid on the growth and carcass composition of growing Iberian pigs. *J. Anim. Sci.* 86, 102-111.
- Flachowsky, G., Schulz, E., Kratz, R., Glodek, P. 2008. Effects of different dietary fat sources on the fatty acid profile of backfat and intramuscular fat of pigs of various sire breeds. *J. Anim. Feed Sci.* 17, 363-371.

- Fontanillas, R., Barroeta, A., Baucells, M.D., Guardiola, A.F. 1998. Backfat fatty acid evolution in swine fed diets high in either cis-monounsaturated, trans, or (n-3) fats. *J. Anim. Sci.* 76, 1045-1055.
- Freytag, S.O., Paielli, D.L., Gilbert, J.D. 1994. Ectopic expression of the CCAAT/enhancer-binding protein alpha promotes the adipogenic program in a variety of mouse fibroblastic cells. *Genes Develop.* 8, 1654-1663.
- Fritsche, J., Rickert, R., Steinhart, H., Yurawecz, M.P., Mossobal, M.M., Sehat, N., Roach, J.A.G., Kramer, J.K.G., Ku, Y. 1999. Conjugated linoleic acid (CLA) isomers: formation, analysis, amount in foods, and dietary intake. *Fett/Lipid* 101, 272-276.
- Fritsche, J., Steinhart, H. 1998. Amounts of conjugated linoleic acid (CLA) in German foods and evaluation of daily intake. *Z. Lebensm Unters Forsch* 206, 77-82.
- Frøyland, L., Madsen, L., Eckhoff, K.M., Lie, Ø. Berge, R.K. 1998. Carnitine palmitoyltransferase I, Carnitine palmitoyltransferase II, and Acyl-CoA oxidase activities in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Lipids* 33, 923-930.
- Garrido, A., Teijón, J.M., Blanco, D., Villaverde, C., Mendoza, C., Ramírez J. 2003. *Fundamentos de Bioquímica Metabólica*. Tebar Eds. Madrid.
- Garst, A.S, Ball, S.F, Williams, B.L. 1999. Technical note: Machine milking of sows-lactational milk yield and litter weights. *J. Anim. Sci.* 77, 1620-1623
- Gatlin, L.A., See, M.T., Larick, D.K., Lin X, Odle J. 2002. Conjugated linoleic acid in combination with supplemental dietary fat alters pork fat quality. *J. Nutr.* 132, 3105-3112.
- Griinari, J.M., Bauman, D.E. 1999. Biosynthesis of conjugated linoleic acid and its incorporation into meat and milk in ruminants. In M. P. Yurawecz, M. M. Mossoba, J. K. G. Kramer, M. W. Pariza, G. Nelson (Eds.), *Advances in conjugated linoleic acid research* (pp. 180–200). Champaign, IL: American Oil Chemists Society Press.

- Griinari, J.M., Corl, B.A., Lacy, S.H., Chouinard, P.Y., Nurmela, K.V., Bauman, D.E. 2000. Conjugated linoleic acid is synthesized endogenously in lactating dairy cows by Δ^9 -desaturase. *J. Nutr.* 130, 2285-2291.
- Ha, Y.L., Grimm, N.K., Pariza, M.W. 1989. Newly recognized anticarcinogenic fatty acids: Identification and quantification in natural and processed cheeses. *J. Agric. Food Chem.* 37, 75-81.
- Ha, Y.L., Storkson, J., Pariza, M.W. 1990. Inhibition of benzo(a)pyrene-induced mouse forestomach neoplasia by conjugated dienoic derivatives of linoleic acid. *Cancer Res.* 50, 1097-1101.
- Harfoot, C.G., Hazelwood, G.P. 1988. Lipid metabolism in the rumen. In P. N. Hobson (Ed.). *The rumen microbial ecosystem* (pp. 285–322). London: Elsevier Science Publishers.
- Haro, A.M., Artacho, R., Cabrera-Vique, C. 2006. Linoleic Conjugated Acid: current interest in human nutrition. *Med. Clin. (Barc)* 127, 508-515.
- Hayek, M.G., Han, S.N., Wu, D., Watkins, B.A., Meydani, M., Dorsey, J.L., Smith, D.E., Meydani, S.N. 1999. Dietary conjugated linoleic acid influences the immune response of young and old C57BL/6N CrlBr mice. *J. Nutr.* 129, 32-38.
- Henry, Y. 1977. Morphological and metabolic development of adipose-tissue in pig as affected by selection, feeding and management. *Ann. Biol. Anim. Biochem. Biophys.* 17, 923- 952.
- Hontecillas, R., Wannemuehler, M.J., Zimmerman, D.R., Hutto, D.L Wilson, J.H., Ahn, D.U., Bassaganya-Riera, J. 2002. Nutritional regulation of porcine bacterial-induced colitis by conjugated linoleic acid. *J. Nutr.* 132, 2019-2027.
- Hood, R.L., Allen, C.E. 1973. Cellularity of bovine adipose tissue. *J. Lipid Res.* 14, 605-610.
- Hotamisligil, G.S., Spiegelman, B.M. 1994. Tumor necrosis factor alpha: a key component of the obesity-diabetes link. *Diabetes* 43, 1271-1278.

- Houseknecht, K.L., Vanden, H.J.P., Moya-Camarena, S.Y., Portocarrero, C.P., Peck, L.W., Nickel, K.P., Belury, M.A. 1998. Dietary conjugated linoleic acid normalizes impaired glucose tolerance in the zucker diabetic fatty fa/fa rat. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 244, 678-682.
- Hunter, Je, Applewhite, T.H. 1986. Isomeric fatty acids in the US diet: levels and health perspectives. *Am. J. Clin. Nutr.* 44, 707-717.
- Inoue, N., Nagao, K., Hirata, J., Wang, Y.M., Yanagita, T. 2004. Conjugated linoleic acid prevents the development of essential hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 323, 679-684.
- Ip, C. 1997. Review of the effects of trans fatty acid, oleic acid, n-3 polyunsaturated fatty acids, and conjugated linoleic acid on mammary carcinogenesis in animals. *Am. J. Clin. Nutr.* 66, 1523-1529.
- Ip, C., Chin, S.F., Scimeca, J.A., 1991. Mammary cancer prevention by conjugated linoleic acid. *Cancer Res.* 50, 1097-1101.
- Ip, C., Singh, M., Thompson, H.J., Scimeca, J.A. 1994. Conjugated linoleic-acid suppresses mammary carcinogenesis and proliferative activity of the mammary-gland in the rat. *Cancer Res.* 54, 1212-1215.
- Jahreis, G., Fritsche, J., Mockel, P., Schone, F., Moller, U., Steinhart, H. 1999. The potential anticarcinogenic conjugated linoleic acid, cis-9,trans-11 C18:2, in milk of different species: cow, goat, ewe, sow, mare, woman. *Nutr. Res.* 19, 1541-1549.
- Jensen, R.G., Lammi-Keep, C.J., Hill, D.H., Kind, A.J., Henderson, B.A. 1998. The anticarcinogenic conjugated fatty acid, 9c,11t-18:2, in human milk: Conformation of its presence. *J. Human Lact.* 14, 23-27.
- Joo, S.T., Lee, J.I., Ha, Y.L., Park, G.B. 2002. Effects of dietary conjugated linoleic acid on fatty acid composition, lipid oxidation, color and water-holding capacity of pork loin. *J. Anim. Sci.* 80, 108-112.

- Kepler, C.R., Hirons, K.P., McNeill, J.J., Tove, S.B. 1966. Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by *Butyrivibrio fibrisolvens*. *J. Biol. Chem.* 241, 1350-1354.
- King, D.A., Behrends, J.M., Jenschke, B.E., Rhoades, R.D., Smith, S.B. 2004. Positional distribution metabolism in the mouse. *Am. J. Physiol.* 44, R667-R672.
- Kliewer, S.A., Sundseth, S.S., Jones, S.A., Brown, P.J., Wisely, G.B., Koble, C.S., Devchand, P., Wahli, W., Willson, T.M., Lenhard, J.M., Lehmann, J.M. 1997. Fatty acids and eicosanoids regulate gene expression through direct interactions with peroxisome proliferator-activated receptors alpha and gamma. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 94, 4318-4323.
- Knight, T.W., Knowles, S., Death, A.F. 2003. Factors affecting the variation in fatty acid concentrations in lean beef from grass-fed cattle in New Zealand and the implications for human health. *New Zealand J. Agric. Res.* 46, 83-95.
- Kornblum, V.E., Molnar, S., Günther, K.D. 1991. Auswirkungen unterschiedlicher Fütterung von laktierenden Sauen auf Milchinhaltsstoffe, Gewichtsverluste der Sauen sowie Ferkelaufzuchtleistung, *Züchtungskunde* 63 146–155.
- Kouba, M., Bonneau, M., Noblet, J. 1999. Relative development of subcutaneous, intermuscular, and kidney fat in growing pigs with different body compositions. *J. Anim. Sci.* 77, 822-629.
- Kramer, J.K., Sehat, N., Dugan, M., Mossoba, M.M., Yurawecz, M.P., Roach, J.A., Eulitz, K., Aalhus, J.L., Schaefer, A.L., Ku, Y. 1998. Distribution of conjugated linoleic acid (CLA) isomers in tissue lipids classes of pigs fed a commercial CLA mixture determined by gas chromatography and silver ion-high-performance liquid chromatography. *Lipids* 33, 549-558.
- Larsen, S.T., Wiegand, B.R., Parrish, F.C., Jr., Swan, J.E., Sparks, J.C. 2009. Dietary conjugated linoleic acid changes belly and bacon quality from pigs fed varied lipid sources. *J. Anim. Sci.* 87, 285-295.

- Lauridsen, C., Danielsen, V., 2004. Lactational dietary fat levels and sources influence milk composition and performance of sows and their progeny. *Livestock Prod. Sci.* 91, 95-105.
- Lauridsen, C., Mu, H., Henckel, P. 2005. Influence of dietary conjugated linoleic acid (CLA) and age at slaughtering on performance, slaughter- and meat quality, lipoproteins, and tissue deposition of CLA in barrows. *Meat Sci.* 69, 393-399.
- Le Dividich, J., Rooke, J. A., Herpin. P. 2005. Nutritional and immunological importance of colostrum for the new-born pig. *J. Agric. Sci.* 143, 469-485.
- Lee, K.N., Kritchevsky, D., Pariza, M.W. 1994. Conjugated linoleic acid and arteriosclerosis in rabbits. *Artherosclerosis* 108, 19-25.
- Lee, K.N., Pariza, M.W., Ntambi, J.M. 1998. Conjugated linoleic acid decreases hepatic stearoyl-CoA desaturase mRNA expression. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 248, 817-821.
- Lee, T.H., Hoover, R.L., Williams, J.D., Sperling, R.I., Ravalese, J., Spur, B.W., Robinson, D.R., Corey, R.J., Lewis, R.A., Austen, K.F. 1985. Effect of dietary enrichment with eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on in vitro neutrophil and monocyte leukotriene generation and neutrophil function. *N. Engl. J. Med.* 312, 1217-1224.
- Lemberger, T., Desvergne, B., Wahli, W. 1996. Peroxisome proliferator-activated receptors: a nuclear receptor signaling pathway in lipid physiology. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* 12, 335-363.
- Lin, F.T., Lane, M.D. 1994. CCAAT/Enhancer Binding-Protein-Alpha is sufficient to initiate the 3T3-L1 adipocyte differentiation program. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 91, 8757-8761.
- Lin, Y., Kreeft, A., Schuurbijs, J.A., Draijer, R. 2001. Different effects of conjugated linoleic acid Isomers on lipoprotein lipase activity in 3T3-L1 adipocyte. *Nutr. Biochem.* 12, 183-189.

- Loor, J.J., Herbein, J.H. 1998. Exogenous conjugated linoleic acid isomers reduce bovine milk fat concentration and yield by inhibiting de novo fatty acid synthesis. *J. Nutr.* 128, 2411-2419.
- López-Bote, C.J. 2001. Alimentación de los animales productores de carne. In: *Enciclopedia de la carne y de los productos cárnicos*, Tomo I. Martín Macías Eds., Plasencia (Cáceres).
- López-Bote, C.J. 2002. Importancia del ácido linoleico conjugado (CLA) sobre la productividad animal y la salud. *Jornadas Técnicas FEDNA: "Utilización de grasas en la Alimentación Animal"*. Madrid.
- López-Bote, C.J., Rey, A.I., Ortiz, L., Menoyo, D. 2004. Cambios en el perfil de ácidos grasos en productos animales en relación con la alimentación animal y humana. Importancia del ácido linoleico conjugado. 2. Monogástricos XX Curso Especialización FEDNA. *Avances en nutrición y alimentación porcina*. P.G. Rebollar, C. De Blas y G. G Mateos (eds), 103-122.
- MacDougald, O.A., Lane, M.D. 1995. Transcriptional regulation of gene expression during adipocyte differentiation. *Annu. Rev. Biochem.* 64, 345-373.
- MacRae, J., O'Reilly, L., Morgan. 2004. Desirable characteristics of animal products from a human health perspective. *Livestock Prod. Sci.* 94, 95-103.
- Malpuech-Brugère, C., Verboeket-Van de Venne, W.P.H.G., Mensink, R.P., Arnal, M.A., Morio, B., Brandolini, M., Saebo, A.S., Lassel, T.S., Chardigny, J.M., Sébédio, J.L. Beaufrère, B. 2004. Effects of two conjugated linoleic Acid isomers on body fat mass in overweight humans. *Obes. Res.* 12, 591-598.
- Martín, D., Antequera, T., González, E., López-Bote, C.J., Ruíz, J. 2007. Changes in the Fatty Acid Profile of the Subcutaneous Fat of Swine throughout Fattening As Affected by Dietary Conjugated Linoleic Acid and Monounsaturated Fatty Acids. *J. Agric. Food Chem.* 55, 10820-10826.
- McDonald, P., Edwards, R., Greenhalgh, J. y Morgan, C. 1999. *Nutrición Animal*. Quinta edición. Ed. Acribia. Zaragoza, España.

- McDonald, P., Edwards, R.A., Greenhalgh, J.F.D., Morgan, C.A. 1999. Nutrición Animal. Sexta Edición. 350-389.
- McLeod, R.S., LeBlanc, A.M., Langille, M.A., Mitchell, P.L., Currie, D.L. 2004. Conjugated linoleic acids, atherosclerosis, and hepatic very-low-density lipoprotein metabolism. *Am. J. Clin. Nutr.* 79, 1169S-1174S.
- McNeel, R.L., Mersmann, H.J. 2001. Conjugated linoleic acid isomers influence porcine adipocyte differentiation in vitro. *FASEB J.* 15, A996.
- Meadus, W.J., MacInnis, R., Dugan, M.E.R. 2002. Prolonged dietary treatment with conjugated linoleic acid stimulates porcine muscle peroxisome proliferator activated receptor gamma and glutamine-fructose aminotransferase gene expression in vivo. *J. Mol. End.* 28, 79-86.
- Migdal, W., Pasciak, K.P., Wojtysiak, D., Barowicz, T., Pieska, M., Pietras, M., 2004. The effect of dietary CLA supplementation on meat and eating quality, and the histochemical profile of the *m. longissimus dorsi* from stress susceptible fatteners slaughtered at heavier weights. *Meat Sci.* 66, 863-870.
- Miner, J.L., Cederberg, C.A., Nielsen, M.K., Chen, X., Baile, C.A. 2001. Conjugated linoleic acid (CLA), body fat and apoptosis. *Obes. Res.* 9, 129-134.
- Mitchell, P.L., McLeod, R.S., 2008. Conjugated Linoleic acid and atherosclerosis: studies in animal models. *Biochem. Cell Biol.* 86, 293-301.
- Moser, B.D., Lewis, A.J. 1980. Adding fat to sow diets. *Feedstuffs* 52, 36-38.
- Mourot, J., Hermier, D. 2001. Lipids in monogastric animal meat. *Reprod. Nutr. Dev.*, 41, 109-118.
- Moya-Camarena, S.Y., Vanden, H.J.P., Belury, M.A. 1999. Conjugated linoleic acid activates peroxisome proliferator-activated receptor α and β subtypes but does not induce hepatic peroxisome proliferation in Sprague-Dawley rats. *Bioch. Biophys. Acta.* 1436, 331-421.
- Moyes, C.D., Hood, D.A. 2003. Origins and consequences of mitochondrial variation in vertebrate muscle. *Annu. Rev. Physiol.* 65, 177-201.

- Muller, H.L., Stangl, G.I., Kirchgessner, M. 1999. Energy balance of conjugated linoleic acid treated pigs. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 81, 150-156.
- Muller, H.L., Kirchgessner, M., Roth, F.X., Stangl, G.I. 2000. Effect of conjugated linoleic acid on energy metabolism in growing-finishing pigs. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 83, 85-94.
- Nagao, K., Inoue, N., Wang, Y. M., Yanagita, T. 2003. Conjugated linoleic acid enhances plasma adiponectin level and alleviates hyperinsulinemia and hypertension in Zucker diabetic fatty (fa/fa) rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 310, 562-566.
- Nicolisi, R.J., Rogers, E.J., Krietechevsky, D., Scimeca, J.A., Huth, P.J. 1997. Dietary conjugated linoleic acid reduces plasma lipoproteins and early aortic atherosclerosis in hypercholesterolemic hamsters. *Artery* 22, 266-277.
- Noblet, J., Etienne. M. 1987. Body composition, metabolic rate and utilization of milk nutrients in suckling piglets. *Reprod. Nutr. Dev.* 27, 829-839.
- O'Quinn, P.R., Nelssen J.L., Unruh J.A., Goodband R.D., Woodworth J.C., Tokach, M.D. 2000a. Effects of feeding modified tall oil and supplemental potassium and magnesium on growth performance, carcass characteristics, and meat quality of growing-finishing pigs. *Can. J. Anim. Sci.* 80, 443-449.
- O'Quinn, P.R., Nelssen, J.L., Goodband, R.D., Unruh, J.A., Woodworth, J.C., Smith, J.S., Tokach, M.D. 2000b. Effects of modified tall oil versus a commercial source of conjugated linoleic acid and increasing levels of modified tall oil on growth performance and carcass characteristics of growing-finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 78, 2359-2368.
- Ostrowska, E., Cross, R., Muralitharan, M., Bauman, D., Dunshea, F. 2003. Dietary conjugated linoleic acid differentially alters fatty acid composition and increases conjugated linoleic acid content in porcine adipose tissue. *Br. J. Nutr.* 90, 915-928.

- Ostrowska, E., Cross, R.F., Warner, R.D., Muralitharan, M., Bauman, D.E., Dunshea, F.R. 2005. Dietary conjugated linoleic acid improves carcass leanness without altering meat quality in the growing pig. *Australian J. Exp. Agric.* 45, 691-697.
- Ostrowska, E., Muralitharan, M., Cross, R.F., Bauman, D.E., Dunshea, F.R. 1999. Dietary conjugated linoleic acid increase lean tissue and decrease fat deposition in growing pigs. *J. Nutr.* 129, 2037-2043.
- Palombo, J.D., Ganguly, A., Bistrian, B.R., Menard, M.P. 2002. The antiproliferative effects of biologically active isomers of conjugated linoleic acid in human colorrectal and prostatic cancer cells. *Cancer Lett.* 177, 163-172.
- Pariza, M.W., Azor, S.H., Chu, F.S., Lund, D.B. 1979. Effect of temperature and time on mutagen formation in pan-fried hamburger. *Cancer Lett.* 7, 63-66.
- Pariza, M.W., Hargraves, W.A. 1985. A beef-derived mutagenesis modulator inhibits initiation of mouse empidermal tumors by 7,12 dymethylbenz(a) anthracene. *Carcinogénesis* 6, 591-593.
- Pariza, M.W., Park, Y., Cook, M.E. 1999. Conjugated linoleic acid and the control of cancer and obesitiy. *Toxicol. Sci.* 52, 107-110.
- Pariza, M.W., Park, Y., Cook, M.E. 2001. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Prog. Lipid Res.* 40, 283-298.
- Pariza, M.W. 2004. Perspective on the safety and effectiveness of conjugated linoleic acid. *Am. J. Clin. Nutr.* 79, 1132S-1136S.
- Park, Y., Albright, K.J., Liu, W., Cook, M.E., Pariza, M.W. 1995. Dietary conjugated linoleic acid (CLA) reduces body fat content and isomers of CLA are incorporated into phospholipid fraction. *IFT Book of Abstract* 183.
- Park, Y, Albright, K.J, Liu, W., Storkson, J.M., Cook, M.E., Pariza, M.W. 1997. Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. *Lipids* 32, 853-858.

- Park, Y., Storkson, J.M., Albright, K.J., Liu, W., Pariza, M.W. 1999. Evidence that the trans-10,cis-12 isomer of conjugated linoleic acid induces body composition changes in mice. *Lipids* 34, 235-241.
- Park, Y., Pariza, M.W. 2007. Mechanisms of body fat modulation by conjugated linoleic acid (CLA). *Food Res. Int.* 40, 311-323.
- Parodi, P.W. 1994. Conjugated linoleic acid content: An anticarcinogenic fatty acid present in milk fat. *Austr. J. Dairy Technol.* 49, 93-97.
- Parodi, P.W., 1997. Conjugated octadecadienoic acids of milk fat. *J. Dairy Sci.* 60, 1550-1553.
- Peters, J.M., Park, Y., Gonzalez, F.J., Pariza, M.W. 2001. Influence of conjugated linoleic acid on body composition and target gene expression in peroxisome proliferator-activated receptor alpha-null mice. *Biochimica Biochim. Biophys. Acta* 1533, 233-242.
- Pettersen, J., Opstvedt, J. 1991. *Trans* fatty acids. 4. Effects on fatty acid composition of colostrum and milk. *Lipids* 26, 711-717.
- Pettigrew, J.E. 1981. Supplemental dietary fat for periparturient sows: a review. *J. Anim. Sci.* 53, 107-117.
- Picciano, M.F. 2001. Nutrient composition of human milk. *Pediatr. Clin. North Am.* 48, 53-67 Process Citation. *Lipids* 35, 899-910.
- Ramsay, T.G., Evock-Clover, C.M., Steele, N.C., Azain, M.J. 2001. Dietary conjugated linoleic acid alters fatty acid composition of pig skeletal muscle and fat. *J. Anim. Sci.* 79, 2152-2161.
- Riopérez, J., Fuentes, A., de Alba, C., Centeno, C., Didoncha, R., Martín Rillo, S. 2000. *Zootecnia Trop.* 18, 163-176.
- Ritzenhaler, K.L., McGuire, M.K., Falen, R., Shultz, T. D., Dasgupta, N., McGuire, M.A. 2001. Estimation of conjugated linoleic acid intake by written dietary assessment methodologies underestimates actual intake evaluated by food duplicate methodology. *J. Nutr.* 131, 1548-1555.

- Ryder, J.W., Portocarrero, C.P., Song, X.M., Cui, L., Yu, M., Combatsiaris, T., Galuska, D., Bauman, D.E., Barbano, D.M., Charron, M.J., Zierath, J.R., Houseknecht, K.L. 2001. Isomer-specific antidiabetic properties of conjugated linoleic acid improved glucose tolerance, skeletal muscle insulin action, and UCP-2 gene expression. *Diabetes* 50, 1149-1157.
- Saggerson, D., Ghadiminejad, I., Awan, M. 1992. Regulation of mitochondrial carnitine palmitoyltransferase from liver and extrahepatic tissues. *Adv. Enzyme Regul.* 32, 285-306.
- Salminen, I., Mutanen, M., Jauhiainen, M., Aro, A. 1998. Dietary trans fatty acids increase conjugated linoleic acid levels in human serum. *J. Nutr. Biochem.* 9, 93-98.
- Sanz, M., Flores, A., López-Bote, C.J. 2000. The metabolic use of calories from dietary fat in broilers is affected by fatty acid saturation. *Br. Poult. Sci.* 40, 61-64.
- Satory, D.L., Smith, S.B. 1999. Conjugated linoleic acid inhibits proliferation but stimulates lipid filling of murine 3T3-L1 preadipocytes. *J Nutr.* 129, 92-97.
- Schmid, A., Collomb, M., Sieber, R., Bee, G. 2006. Conjugated linoleic acid in meat and meat products: A review. *Meat Sci.* 73, 29-41.
- Sebedio, J.L., Gnaedig, S., Chardigny, J.M. 1999. Recent Advances in Conjugated Linoleic Acid Research. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 2, 499-506.
- Sehat, N., Kramer, J.K.G., Mossoba, M.M., Yurawecz, M.P., Roach, J.A.G., Eulitz, K., Morehouse, k.M., Ku, Y. 1998. Identification of conjugated linoleic acid isomers in cheese by gas chromatography, silver ion high performance liquid chromatography and mass spectral reconstructed ion profiles. Comparison of chromatographic elution sequences. *Lipids* 33, 963-971.
- Smith, S.B., Hively, T.S., Cortese, G.M., Han, J.J., Chung, K.Y., Casteñada, P., Gilbert, C.D., Adams, V.L., Mersmann, H.J. 2002. Conjugated linoleic acid depresses the Δ^9 desaturase index and stearoyl coenzyme A desaturase enzyme activity in porcine subcutaneous adipose tissue. *J. Anim. Sci.* 80, 2110-2115.

- Sneddon, A.A., Tsofliou, F., Fyfe, C.L., Matheson, I., Jackson, D.M., Horgan, G., Winzell, M.S., Wahle, K.W., Ahren, B., Williams, L.M. 2008. Effect of a conjugated linoleic acid and omega -3 fatty acid mixture on body composition and adiponectin. *Obes.* 16, 1019-1024.
- Stryer, L. 1988. Integration of metabolism. *Biochemistry*, pp. 627-645. Freeman W.H. and Co., (ed). New York, US.
- Sugano, M., Tsujita, A., Yamasaki, M., Noguchi, M., Yamada, K. 1998. Conjugated linoleic acid modulates tissue levels of chemical mediator and immune globulins in rats. *Lipids* 33, 521-527.
- Sun, D.Y., Zhu, X.P., Qiao, S.Y., Fan, S.J., Li, D.F. 2004. Effects of conjugated linoleic acid levels and feeding intervals on performance, carcass traits and fatty acid composition of finishing barrows. *Archiv Anim. Nutr.* 58, 277-286.
- Suryawan, A., Hu, C.Y. 1993. Effect of serum on differentiation of porcine adipose stromal-vascular cells in primary culture. *Comp. Biochem. Physiol.* 105A, 485.
- Thiel-Cooper, R.L., Parrish, F.C. Jr., Sparks, J.C., Wiegand, B.R., Ewan, R.C. 2001. Conjugated linoleic acid changes swine performance and carcass composition. *J. Anim. Sci.* 79, 1821-1828.
- Thiel-Cooper, R.L., Parrish, F.C. Jr., Wiegand, B.R., Love, J.A. 1998. Body composition and sensory characteristics of pork from CLA-fed pigs. In *Swine research report ASL-R1614*, 221-225.
- Tilton, S.L., Miller, P.S., Lewis, A.J., Reese, D.E., Ermer, P.M. 1999. Addition of fat to the diets of lactating sows: 1. Effects on milk production and composition and carcass composition of the litter at weaning. *J. Anim. Sci.* 77, 2491-2500.
- Tischendorf, F., Schone, F., Kirchheim, U., Jahreis, G. 2002. Influence of a conjugated linoleic acid mixture on growth, organ weights, carcass traits and meat quality in growing pigs. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 86, 117-128.

- Tontonoz, P., Hu, E., Spiegelman, B.M. 1994. Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR gamma 2, a lipid- activated transcription factor. *Cell* 79, 1147-1156.
- Tricon, S., Burdge, G.C., Kew, S., Banerjee, T., Russell, J.J., Jones, E.L., Grimble, R.F., Williams, C.M., Yaqoob, P., Calder, P.C. 2004. Opposing effects of cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid on blood lipids in healthy humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 80, 614-620.
- Tsuboyama-Kasaoka, N., Takahashi M., Tanemura K., Kim H.J., Tange T., Okuyama H., Kasai M., Ikemoto S., Ezaki O. 2000. Conjugated linoleic acid supplementation reduces adipose tissue by apoptosis and develops lipodystrophy in mice. *Diabetes* 49, 1534-1542.
- Wahle, K.W., Heys, S.D., Rotondo, D. 2004. Conjugated linoleic acids: are they beneficial or detrimental to health? *Prog. Lipid Res.* 43, 553-587.
- Walczak, R., Tontonoz, P. 2002. PPARadigms and PPARadoxes: expanding roles for PPAR γ in the control of lipid metabolism. *J. Lipid Res.* 43, 177-186.
- Watkins, B.A., Feng, S.L., Strom, A.K., DeVitt, A.A., Yu, LG., Li, Y. 2003. Conjugated linoleic acids alter the fatty acid composition and physical properties of egg yolk and albumen. *J. Agric. Food Chem.* 51, 6870-6876.
- Waylan, A.T., O'Quinn, P.R., Unruh, J.A., Nelsen, J.L., Goodband, R.D., Woodworth, J.C., Tokach, M.D., Koo S.I. 2002. Effects of modified tall oil and vitamin E on growth performance, carcass characteristics, and meat quality of growing-finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 80, 1575-1585.
- West, D.B., Delany, J.P., Camet, P.M., Blohm, F., Truett, A., Scimeca, J. 1998. Effects of conjugated linoleic acid on body fat and energy metabolism in the mouse. *Am. J. Physiol.* 275, R667- 672.
- West, D.B., Blohm, F.Y., Truett, A.A., DeLany, J.P. 2000. Conjugated linoleic acid persistently increases total energy expenditure in AKR/J mice without increasing uncoupling protein gene expression. *J. Nutr.* 130, 2471-2477.

- Wheeler, T.T., Hodgkinson, A.J, Proser, C.G., Davis, S.R. 2007. Immune components of colostrum and milk- a historical perspective. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia* 12, 237-247.
- Wiegand, B.R., Parrish, F.C., Swan, J.E., Larsen, S.T., Baas, T.J. 2001. Conjugated linoleic acid improves feed efficiency, decreases subcutaneous fat, and improves certain aspects of meat quality in stress-genotype pigs. *J. Anim. Sci.* 79, 2187-2195.
- Wiegand, B.R., Sparks, J.C., Parrish, F.C Jr., Zimmerman, D.R. 2002. Duration of feeding conjugated linoleic acid influences growth performance, carcass traits, and meat quality of finishing barrows. *J. Anim. Sci.* 80, 637-643.
- Wu, Z., Xie, Y., Bucher, N. L. & Farmer, S. R. (1995) Conditional ectopic expression of C/EBP β in NIH-3T3 cells induces PPAR γ and stimulates adipogenesis. *Genes Dev.* 9: 2350-2363.
- Yaqoob, P., Calder, P.C. 2007. Fatty acids and immune function: new insights into mechanisms. *Br. J. Nutr.* 98, S41-45.
- Zammit, V.A. 1996. Role of insulin in hepatic fatty acid partitioning: emerging concepts. *Biochem. J.* 314, 1-14.
- Zhou, X.R., Sun, C.H., Lui, J.R., Zhao, D. 2008. Dietary conjugated linoleic acid increases PPAR gamma gene expression in adipose tissue of obese rat and improves insulin resistance. *Growth Horm. IGF Res.* 18, 361-368.

3. PLANTEAMIENTO Y **OBJETIVOS**

3. PLANTEAMIENTO Y OBJETIVOS

A partir de las investigaciones iniciadas por Pariza y colaboradores en la Universidad de Wisconsin hace aproximadamente tres décadas, se ha podido poner de manifiesto el papel regulador del CLA en un buen número de procesos biológicos (Pariza *et al.*, 2001; Benjamin y Spener, 2009). Para el sector de la producción porcina el interés del CLA se centra en tres aspectos especialmente relevantes:

(1) Alterar el metabolismo lipídico, lo que puede permitir mejorar la utilización metabólica de grasas para obtención de energía en cerdos. Este es un hecho de gran importancia en algunas situaciones críticas, como es la movilización de reservas en lactación o en los primeros momentos tras el destete.

(2) Modificar las propiedades de calidad del magro y de la grasa en cerdos de cebo. Teniendo en cuenta la importancia de la calidad en la producción porcina española y las peculiaridades del sistema productivo (que incluye al cerdo ibérico), hemos considerado interesante establecer una serie de estrategias nutricionales encaminadas a incrementar los parámetros de calidad de los productos derivados del cerdo. En este sentido, la grasa intramuscular y el perfil de ácidos grasos que son dos características fundamentales que determinan la calidad de los productos. La incorporación del CLA en el pienso del ganado porcino es capaz de modificar estos dos parámetros, por lo que el estudio de los efectos que produce este aditivo en el pienso de los animales es de gran interés.

(3) Aumentar la concentración de los dos principales isómeros (*c9,t11* y *t10,c12*) en los tejidos del cerdo para conseguir que lleguen al consumidor en cantidades apreciables.

El enriquecimiento de CLA de la carne puede ser un hecho de importancia, habida cuenta del elevado consumo en España del consumo de carne de cerdo y el proporcionalmente bajo de rumiantes, lo que hace que la ingestión de CLA por el consumidor español sea muy baja, en comparación con otros países europeos (Schmid *et al.*, 2006). Se hace por tanto preciso establecer la mejor combinación dosis/tiempo de administración para optimizar la concentración de CLA en los tejidos del cerdo.

Teniendo en cuenta toda esta información existente, planteamos las distintas **HIPÓTESIS** de trabajo.

1.- La inclusión del CLA en el pienso de cerdos de cebo afecta al contenido de grasa intramuscular y a la composición de ácidos grasos

2.- La inclusión de CLA en el pienso de cerdos afecta a la utilización metabólica de lípidos

3.- La inclusión de CLA en el pienso de cerdas reproductoras afecta al contenido de grasa de la leche, a la composición de ácidos grasos de la misma y a su vez se transfiere al calostro y la leche, enriqueciendo así los tejidos (subcutáneo y hepático) de los lechones lactantes.

Con el objetivo de verificar las distintas hipótesis, en esta Tesis Doctoral se han desarrollado cuatro ensayos experimentales. El primero y segundo se diseñaron con el objetivo de estudiar la posible influencia que el CLA (mezcla de isómeros 50:50) podría ejercer sobre el metabolismo de lípidos, modificación del perfil de ácidos grasos y el contenido en grasa intramuscular. El primer experimento se hizo en cerdos de genética Large White x Landrace (cerdo blanco) y el segundo en cerdos de genética ibérico x Duroc. El elevado potencial adipogénico del cerdo ibérico puede considerarse como una característica muy apropiada para estudiar los efectos que la incorporación del CLA puede producir.

Los otros dos experimentos se diseñaron con el objetivo de estudiar la influencia que el CLA incluido en el pienso podría ejercer en cerdas reproductoras (parámetros reproductivos) y su progenie (posible transferencia del CLA a la leche de las cerdas y su posterior efecto en la composición corporal de los lechones).

4. TRABAJO EXPERIMENTAL 1

La utilización de CLA en la dieta altera la grasa intramuscular y la composición de ácidos grasos del músculo esquelético y del tejido adiposo subcutáneo en el ganado porcino.

Dietary CLA alters intramuscular fat and fatty acid composition of pig skeletal muscle and subcutaneous adipose tissue.

Meat Science 2010, 85 (2), 235-239.

4. TRABAJO EXPERIMENTAL 1

4.1. RESUMEN

El presente estudio se realizó para determinar el efecto que produce la incorporación de diferentes niveles de ácido linoleico conjugado (CLA) sobre la cantidad de grasa intramuscular (GIM) y la composición de ácidos grasos del músculo esquelético y grasa subcutánea en cerdos desde los 59.5 kg a los 133.5 kg. Para ello se realizó un experimento con 40 hembras Large White x (Large White x Landrace), que fueron alimentadas con piensos en los que se incluyeron 4 niveles (0, 0.5, 1 y 2%) de un aceite comercial enriquecido con CLA (CLA-60 Loderstar, Bélgica), que contenía ~~un~~ aproximadamente un 60% de isómeros de CLA (30% *cis*-9, *trans*-11 y 30% de *trans*-10, *cis*-12). Después de 85 días de prueba los animales fueron sacrificados determinándose entonces los pesos de la canal, el jamón, el lomo y las paletas.

En los animales alimentados con piensos enriquecidos con CLA se observó un aumento del peso del lomo ($P < 0.01$) y del peso combinado de la suma de las paletas, jamones y lomos ($P < 0.02$). El contenido de GIM en el músculo *L. dorsi* también se incrementó en aquellos animales alimentados con CLA ($P < 0.001$) y este incremento mostró una respuesta lineal frente a la incorporación de concentraciones crecientes de CLA. La inclusión de CLA en los piensos aumentó el porcentaje de ácidos grasos saturados (AGS) y disminuyó el de los ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) en el músculo y el tejido adiposo ($P < 0.001$). Los piensos con un 1% de CLA aumentaron la GIM de los cerdos sacrificados con un peso medio de 133.5 kg.

4.2. MATERIAL Y MÉTODOS

4.2.1. Animales y dietas

Los cuidados de los animales y los procedimientos experimentales usados en este experimento fueron aprobados por la Universidad Complutense de Madrid. Se usaron 40 cerdas hembras Large White x (Large White x Landrace) de 59.5 kg (± 1.5) de peso vivo. Los cerdos fueron distribuidos al azar en 4 grupos. Los piensos se formularon con 4 niveles (0, 0.5, 1 y 2%) de un aceite comercial enriquecido con CLA (CLA-60 Loderstar, Bélgica) que contenía aproximadamente un 60% de isómeros de CLA en su forma éster (30% *cis*-9, *trans*-11 y 30% de *trans*-10, *cis*-12). Todas las dietas fueron

formuladas para proporcionar niveles de proteínas y energía similares, teniendo en cuenta las necesidades nutricionales de las cerdas consideradas en base a su peso corporal según el Consejo Nacional de Investigación (1998).

Las dietas se proporcionaron *ad libitum* durante 85 días. Antes del comienzo del experimento, todas las cerdas fueron sometidas a la misma alimentación y manejo. Los animales fueron sacrificados en un matadero local con 133,5 (\pm 2,2) kg de peso vivo.

Los ingredientes, la composición química y los principales AG de las raciones experimentales se muestran en la **Tabla 1**. La determinación de la composición de los piensos (por triplicado) se realizó siguiendo la metodología propuesta por la AOAC (2005). Los AG de la dieta se extrajeron y se cuantificaron por el procedimiento del one-step descrito por Sukhija y Palmquist (1988) a partir de muestras liofilizadas. El ácido pentadecanoico (C15:0) (Sigma-Aldrich, Madrid, España) fue utilizado como patrón interno. Los ésteres metílicos de AG se analizaron mediante cromatografía de gases utilizando un aparato Hewlett-Packard HP-6890 (Avondale, PA, EE.UU.) equipado con un detector de ionización de llama y una columna capilar HP-Innowax (100 x 0,32 x 0,25 de polietilenglicol) (López-Bote, Isabel Ruiz, y Daza, 2003).

4.2.2. Toma de muestras y análisis químico

Los lípidos de la grasa dorsal subcutánea fueron extraídos por el procedimiento propuesto por Bligh y Dyer (1959). La GIM del músculo *L. dorsi* (dorsal largo) se extrajo con una mezcla de cloroformo / metanol (2:1 v / v) siguiendo el procedimiento descrito por Folch, Lees, y Stanley (1957). Los extractos lipídicos fueron metilados en presencia de metóxido de sodio (Christie, 1982) y se analizaron como se describe para los AG de la dieta.

4.2.3. Análisis estadístico

El análisis de varianza (ANOVA) se llevó a cabo para evaluar el efecto del nivel de CLA en el pienso sobre la canal, calidad de la grasa, y el perfil de AG en la grasa dorsal subcutánea y GIM. Además, se utilizó el método descrito por Robbins (1986), análisis de doble pendiente, para determinar la mínima concentración de CLA en la dieta que provocó un cambio en la relación C18:1 n-9/C18:0 en el tejido adiposo subcutáneo y en el tejido intramuscular. El nivel de significación estadística para todos los análisis fue predeterminado ($P < 0.05$). El test de Duncan se utilizó para separar las medias de los

tratamientos, y el análisis de regresión fue utilizado para medir el tipo de respuesta lineal (L) o cuadrática (Q) frente al nivel de inclusión de CLA. La comparación de las pendientes de las ecuaciones de regresión se llevó a cabo mediante el test de Student. Los datos fueron analizados utilizando la versión 9.1 del paquete estadístico SAS (2002).

4.3. RESULTADOS

El peso de la canal y el rendimiento canal no se vieron afectados por el contenido en CLA de los piensos experimentales (**Tabla 2**). Los piensos enriquecidos con CLA aumentaron el peso del lomo ($P < 0.01$) y peso combinado de jamones + paletas+ lomos ($P < 0.02$) (**Tabla 2**). La conductividad eléctrica se midió en los jamones y fue menor en los jamones de los cerdos alimentados con un 2% de CLA comparados con los cerdos alimentados con la dieta control. La conductividad eléctrica se utiliza con frecuencia para estimar la desnaturalización de las proteínas y la retención de agua, lo que sugiere que un alto nivel de inclusión de CLA puede producir un jamón con mejores propiedades tecnológicas. Por otra parte la conductividad eléctrica también puede ser asociada negativamente con el contenido en GIM.

EL contenido de GIM se vio afectada por el nivel de incorporación de CLA en el pienso ($P < 0.001$) y se observó una respuesta lineal ($GIM = 2.13 (\pm 0.074) + 0,19 (\pm 0,07) \times \% \text{ dieta CLA}$) ($R^2 = 0,23$, $RSD = 0,26$, $P < 0.01$). Si bien la incorporación de un 0,5% de CLA no mostró diferencias estadísticas con el nivel de 0 %, la inclusión de un 1% y un 2% de CLA en el pienso dio lugar a un marcado aumento en el contenido de GIM (16% y 19%, respectivamente).

El perfil de AG de la grasa subcutánea de cerdos alimentados con dietas que incorporan distintos niveles de CLA se muestran en la **Tabla 3**. El aumento de la concentración de CLA en la alimentación tuvo una influencia positiva ($P < 0.05$) sobre el C12:0, C14:0, C16:0, C18:0, AGS, *c9,t11*-CLA, *t10,c12*-CLA y la proporción de AGPI, y un efecto negativo sobre el C16:1 n-7, C18:1 n-9, C18:1 n-7, C18:3 n-3, C18:4 n-3 y la proporción de AGMI, mientras que el C16:1 n-9, C18:2 n-6 y el C20:0 no se vieron afectados por el contenido de CLA. La acumulación del isómero *c9,t11*-CLA en el tejido subcutáneo fue mayor que la del isómero *t10,c12*-CLA.

El perfil de AG de la grasa intramuscular del músculo *L. dorsi* de los cerdos alimentados con piensos que incorporaron distintos niveles de CLA se presentan en la **Tabla 4**. El aumento de la concentración de CLA en la alimentación tuvo una influencia positiva ($P < 0.05$) sobre el C16:0, C18:0, AGS, *c*9,*t*11-CLA y *t*10,*c*12-CLA y un efecto negativo sobre el C16:1 n-9, C18:1 n-9, C18:3 n-3 y la proporción de AGMI, mientras que el C18:2 n-6, C18:4, C20:0 y los AGPI no se vieron afectados por el contenido de CLA

El incremento de la concentración de C16:0 en la grasa subcutánea fue menor que en la GMI, mientras que de forma opuesta la respuesta observada a la concentración de C18:0 resultó mayor en la grasa subcutánea, este hecho puede indicarnos que existen diferencias en la regulación que ejerce el CLA sobre el metabolismo de los lípidos en los diferentes tejidos animales. La disminución de C18:1 n-9 resultó menor en la GIM que en el tejido adiposo subcutáneo, sugiriendo que el CLA es menos efectivo en la regulación de la enzima delta-9-desaturasa en el tejido muscular que en el tejido adiposo.

El análisis de doble pendiente (two-slope broken line) realizado sobre la relación C18:1 n-9/C18:0 en el tejido subcutáneo y en la GIM, mostró una respuesta de diferente magnitud en los dos tejidos, respecto a la incorporación de CLA en la alimentación de los animales, en el rango 0-0,65% (pendiente SC= $-2,4 \pm 0,22$ vs pendiente GIM= $-1,60 \pm 0,31$). La mínima concentración de CLA que provocó un cambio en la relación C18:1 n-9/C18:0 en el tejido adiposo subcutáneo fue de 0,65 y en el tejido intramuscular resultó ser de 0,6.

4.4. TABLAS Y FIGURAS TRABAJO EXPERIMENTAL 1

Tabla 1. Ingredientes, composición química analizada y composición de ácidos grasos de los piensos experimentales.

Ingredientes (%)	Nivel de CLA (%)			
	0.0	0.5	1	2
Cebada	50	50	50	50
Trigo	14	14	14	14
Maíz	10	10	10	10
Soja 44	18	18	18	18
Sorgo	1	1	1	1
Manteca	1	0	0	0
Aceite enriquecido con CLA ¹	0	0.5	1	2
Carbonato cálcico	1	1	1	1
Fosfato bicalcico	0.50	0.50	0.50	0.50
Sal fina	0.40	0.40	0.40	0.40
Corrector vitamínico-mineral	0.35	0.35	0.35	0.35
Composición química (%)				
Fibra bruta	4.60	4.50	4.40	4.40
Proteína bruta	15.50	15.50	15.50	15.50
Grasa bruta	4.0	4.2	4.5	4.6
Cenizas	5.20	5.20	5.20	5.20
Composición de ácidos grasos (%)				
C14:0	0.84	0.78	0.71	0.61
C16:0	21.19	20.53	19.48	17.1
C16:1 n-7	1.17	1.17	1.06	0.92
C18:0	6.15	6.14	6.04	5.74
C18:1 n-9	27.73	28.41	28.78	28.7
C18:2 n-6	37.78	32.44	29.11	23.71
<i>c9,t11</i> CLA ¹	0.00	2.16	4.86	8.78
<i>t10,c12</i> CLA ¹	0.00	2.05	4.72	8.63
ΣAGS	28.18	27.45	26.23	23.45
ΣAGMI	28.90	29.58	29.84	29.62
ΣAGPI	37.86	32.55	29.24	25.86

¹CLA (60% isómeros de CLA, mitad *cis-9,trans-11* y mitad *trans-10, cis-12*) suministrado por LoderstarTM (Wormerveer, Holanda)

ΣAGS, ΣAGMI, ΣAGPI = suma de la concentración de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados respectivamente.

Tabla 2. Características de la canal de los animales experimentales de acuerdo con los niveles de CLA en el pienso.

	Nivel de CLA (%)				RMSE ^c	P-valor
	0.0	0.5	1.0	2.0		
Peso sacrificio (kg)	133.33	133.19	130.45	137.39	8.64	0.39
Peso canal (kg)	109.56	107.75	106.30	113.00	7.03	0.19
Rendimiento canal (%)	82.17	80.90	81.49	82.25	4.53	0.95
Peso jamón (kg)	15.18	15.09	15.00	16.00	1.00	0.06
Peso paleta (kg)	9.39	9.14	9.31	9.81	0.63	0.08
Peso lomo (kg)	4.11 ^b	4.08 ^b	4.09 ^b	4.47 ^a	0.33	0.01
Peso costillar (kg)	6.54	6.26	6.50	6.71	0.57	0.39
Peso panceta (kg)	5.14	4.85	5.24	5.33	0.76	0.63
Peso de (Jamón + Paleta + Lomo)	28.68 ^b	28.30 ^b	28.40 ^b	30.28 ^a	1.73	0.02
Conductividad eléctrica jamón derecho	7.29 ^a	4.66 ^{ab}	4.40 ^{ab}	3.59 ^b	1.22	0.05
GIM del <i>L. dorsi</i> (%) ^(L)	2.04 ^a	2.12 ^a	2.53 ^b	2.54 ^b	0.24	<0.001

^{a,b}, Valores de una misma fila sin un superíndice común son diferentes significativamente (P<0.05).

^cRMSE = raíz cuadrada del cuadrado medio del error

L= Respuesta lineal a la administración de CLA en el pienso

Tabla 3. Perfil de ácidos grasos (% total de ácidos grasos) de la grasa dorsal subcutánea de acuerdo con los niveles de CLA el pienso.

Ácidos grasos	Nivel de CLA (%)				RMSE ^c	P-valor
	0.0	0.5	1	2		
C12:0 ^(L,Q)	0.07 ^a	0.10 ^b	0.12 ^c	0.13 ^c	0.01	<0.001
C14:0 ^(L,Q)	1.39 ^a	1.83 ^b	2.22 ^c	2.33 ^c	0.22	<0.001
C16:0 ^(L,Q)	23.33 ^a	24.43 ^a	25.81 ^b	26.34 ^b	1.13	<0.001
C16:1 n-9	0.42	0.44	0.37	0.39	0.10	0.572
C16:1 n-7 ^(L)	2.50 ^a	2.45 ^a	2.35 ^a	1.85 ^b	0.28	<0.001
C18:0 ^(L,Q)	11.72 ^a	15.13 ^b	16.81 ^c	18.38 ^d	1.33	<0.001
C18:1 n-9 ^(L,Q)	42.65 ^a	36.72 ^b	33.31 ^c	30.33 ^d	1.25	<0.001
C18:1 n-7 ^(L,Q)	3.15 ^a	2.72 ^b	2.49 ^c	2.17 ^d	0.17	<0.001
C18:2 n-6	12.63	13.39	12.99	12.75	1.91	0.824
C18:3 n-3 ^(L,Q)	1.09 ^a	0.96 ^a	0.85 ^b	0.78 ^b	0.08	<0.001
<i>c9,t11</i> CLA ^(L)	n.d ^a	0.63 ^b	1.21 ^c	2.42 ^d	0.14	<0.001
<i>t10,c12</i> CLA ^(L)	n.d ^a	0.26 ^b	0.58 ^c	1.27 ^d	0.09	<0.001
C18:4 n-3	0.65 ^a	0.64 ^a	0.59 ^{ab}	0.57 ^b	0.06	0.027
C20:0	0.17	0.18	0.17	0.17	0.02	0.559
ΣAGS ^(L,Q)	36.69 ^a	41.70 ^b	45.17 ^c	47.36 ^d	2.09	<0.001
ΣAGMI ^(L,Q)	48.79 ^a	42.42 ^b	38.61 ^c	34.84 ^d	1.37	<0.001
ΣAGPI	14.37	14.98	14.43	14.10	1.92	0.774
ΣAGMI/ΣAGS ^(L,Q)	1.33 ^a	1.02 ^b	0.86 ^c	0.74 ^d	0.06	<0.001
C16:1n-7/C16:0 ^(L)	0.11 ^a	0.10 ^{ab}	0.09 ^b	0.07 ^c	0.01	<0.001
C18:1n-9/C18:0 ^(L,Q)	3.65 ^a	2.46 ^b	1.99 ^c	1.66 ^d	0.23	<0.001

^{a,b,c,d} Valores de una misma fila sin un superíndice común son diferentes significativamente (P< 0.05).

^cRMSE = raíz cuadrada del cuadrado medio del error

^L = Respuesta lineal a la administración de CLA en el pienso (P<0.05)

^Q = Respuesta cuadrática a la administración de CLA en el pienso (P<0.05)

n.d= no detectado

ΣAGS, ΣAGMI, ΣAGPI = suma de la concentración de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados respectivamente.

Tabla 4. Perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular del *Longissimus dorsi* (% total de ácidos grasos) de acuerdo con los niveles de CLA en el pienso.

Ácidos grasos	Nivel de CLA (%)				RMSE ^c	P-valor
	0.0	0.5	1	2		
C12:0	0.04	0.00	0.05	0.06	0.04	0.501
C14:0 ^(L)	0.83 ^c	0.99 ^{bc}	1.14 ^b	1.28 ^a	0.23	0.005
C16:0 ^(L)	28.44 ^c	29.78 ^c	31.53 ^b	33.86 ^a	1.45	<0.001
C16:1 n-9 ^(L)	0.18 ^a	0.12 ^b	0.12 ^b	0.09 ^b	0.03	0.006
C16:1 n-7	2.58	2.43	2.22	2.13	0.63	0.395
C18:0 ^(L,Q)	11.59 ^b	13.78 ^a	14.53 ^a	14.70 ^a	0.84	<0.001
C18:1 n-9	38.79 ^a	35.14 ^b	33.56 ^{bc}	31.35 ^c	2.76	<0.001
C18:1 n-7	2.96 ^a	2.60 ^{ab}	2.55 ^{ab}	2.38 ^b	0.35	0.030
C18:2 n-6	12.87	14.03	12.58	12.07	3.25	0.702
C18:3 n-3 ^(L)	0.31 ^a	0.28 ^{ab}	0.24 ^{bc}	0.20 ^c	0.04	<0.001
<i>c9,t11</i> CLA ^(L)	n.d ^c	0.14 ^{bc}	0.21 ^b	0.40 ^a	0.07	<0.001
<i>t1,c12</i> CLA ^(L)	n.d ^b	0.00 ^b	0.08 ^{ab}	0.15 ^a	0.04	0.002
C18:4 n-3	0.48	0.18	0.16	0.15	0.26	0.128
C20:0	1.33	1.75	1.47	1.22	0.54	0.463
ΣAGS ^(L,Q)	41.95 ^d	45.42 ^c	48.52 ^b	51.11 ^a	1.42	<0.001
ΣAGMI ^(L)	44.47 ^a	40.27 ^b	38.38 ^{bc}	35.93 ^c	2.76	<0.001
ΣAGPI	13.57	14.25	12.89	12.43	3.30	0.674
ΣAGMI/ΣAGS ^(L,Q)	1.06 ^a	0.88 ^b	0.79 ^c	0.70 ^d	0.06	<0.001
C16:1 n-7/C16:0	0.09	0.08	0.07	0.07	0.02	0.135
C18:1 n-9/C18:0 ^(L,Q)	3.35 ^a	2.55 ^b	2.32 ^{bc}	2.13 ^c	0.26	<0.001

^{a,b,c,d} Valores de una misma fila sin un superíndice común son diferentes significativamente (P< 0.05).

^cRMSE = raíz cuadrada del cuadrado medio del error

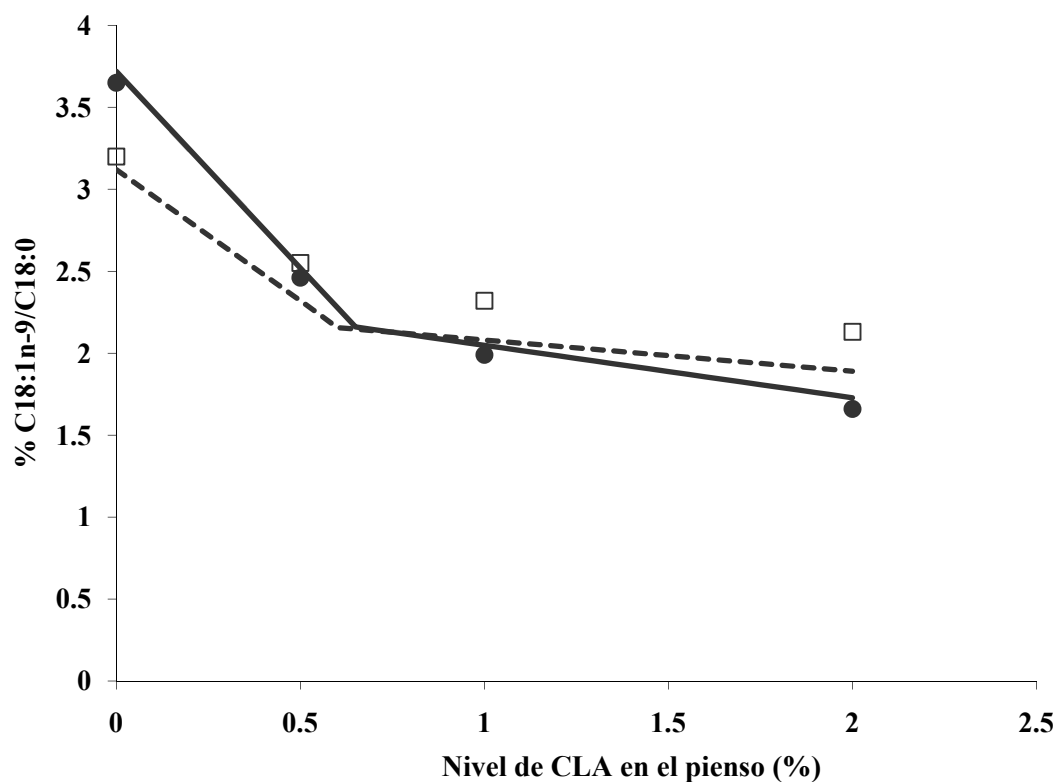
^L = Respuesta lineal a la administración de CLA en el pienso (P<0.05)

^Q = Respuesta cuadrática a la administración de CLA en el pienso (P<0.05)

n.d= no detectado

ΣAGS, ΣAGMI, ΣAGPI = suma de la concentración de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados respectivamente.

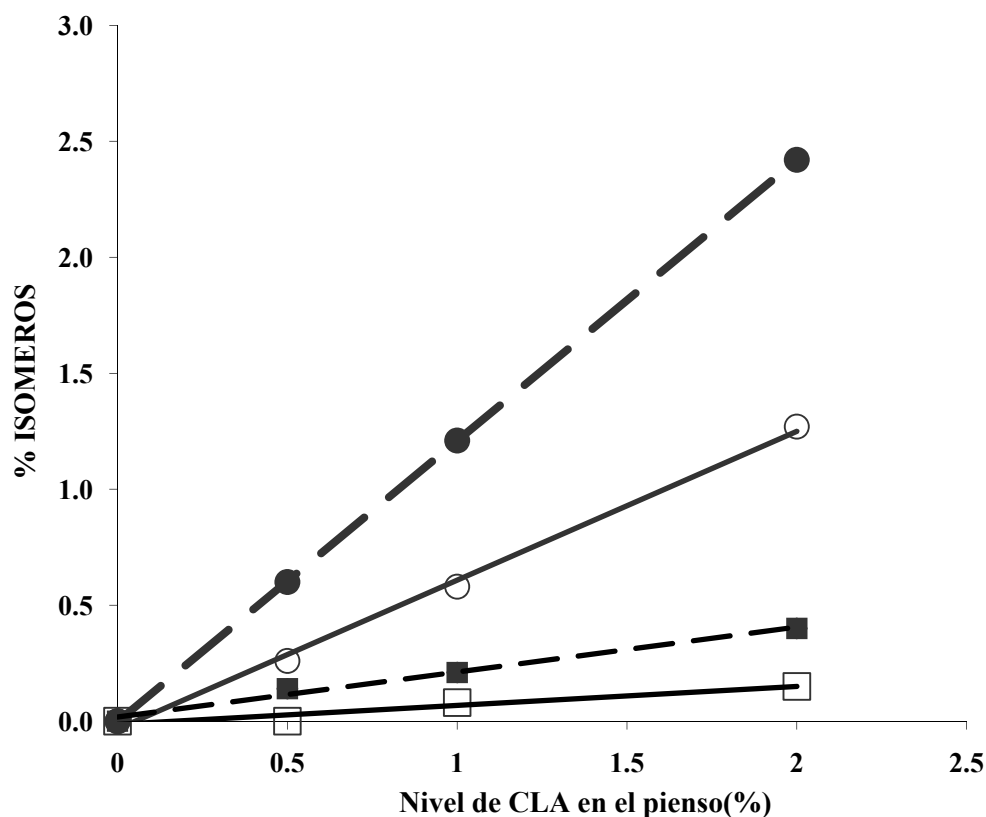
Figura 1. Doble pendiente broken-line para el contenido de C18:1n-9/C18:0 en la grasa dorsal subcutánea (SC) (línea continua) y en la grasa del músculo Longissimus dorsi (IM) (línea discontinua) de acuerdo a la concentración de CLA en el pienso y los valores medios observados para cada tratamiento (n = 10 por tratamiento).



El punto de corte para la grasa dorsal subcutánea fue de 0.65%. (Y-meseta = 2.16; pendiente por debajo del punto de corte = -2.40; pendiente por encima del punto de corte = -0.32).

El punto de corte para la IMF fue de 0.60%. (Y-meseta = 2.40; pendiente por debajo del punto de corte = -1.60; pendiente por encima del punto de corte = -0.16).

Figura 2. Respuesta lineal entre la concentración de *c9,t11*-CLA (línea discontinua) y de *t10,c12*-CLA (línea continua) respecto al nivel de CLA administrado en el pienso sobre el tejido subcutáneo (SC), (●), (○) e intramuscular (IM), (■), (□), correspondiente a los valores actuales analizados para el tejido subcutáneo e intramuscular, respectivamente.



Subcutáneo

c9,t11-CLA = $1.16x \pm (0.03) + 0.07 \pm (0.03)$ ($p < 0.0001$), $R^2 = 0.98$; $RMSE^b = 0.13$

t10,c12-CLA = $0.62x \pm (0.02) - 0.006 \pm (0.02)$ ($p < 0.0001$) $R^2 = 0.97$; $RMSE^b = 0.089$.

Intramuscular

c9,t11-CLA = $0.20x \pm (0.02) - 0.02 \pm (0.04)$ ($p < 0.0001$), $R^2 = 0.80$; $RMSE^b = 0.065$.

t10,c12-CLA = $0.068x \pm (0.01) - 0.017 \pm (0.02)$ ($p < 0.0003$), $R^2 = 0.57$; $RMSE^b = 0.035$.

(x = % de CLA en la dieta).

R^2 = coeficiente de determinación.

$RMSE^b$ = raíz cuadrada del cuadrado medio del error.

5. TRABAJO EXPERIMENTAL 2

La suplementación de CLA en el pienso modifica la composición de ácidos grasos de la grasa subcutánea e intramuscular en cerdos pesados ibérico x Duroc durante la fase de acabado.

Dietary CLA supplementation and gender modify fatty acid composition of subcutaneous and intramuscular fat in Iberian × Duroc finishing heavy pigs.

Spanish Journal of Agricultural Research 2010, 8 (4).

5. TRABAJO EXPERIMENTAL 2

5.1. RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue valorar el efecto del enriquecimiento con ácido linoleico conjugado (CLA), en la dieta de cerdos grasos y pesados durante la fase de acabado, sobre el crecimiento, el rendimiento de la canal y la composición de ácidos grasos (AG) en la grasa subcutánea e intramuscular, incluyendo la concentración de los principales isómeros del CLA. Se usaron cuarenta cerdos castrados Ibérico x Duroc, mitad machos (CM) y mitad hembras (CF), con un peso vivo de 120 ($\pm 2,83$) kg. Los cerdos se alimentaron con dietas experimentales que contenían dos niveles de CLA (0 y 1 %). No se observó ningún efecto de la incorporación del CLA sobre el espesor de grasa subcutánea o en la concentración de GIM. La incorporación de CLFA incrementó la concentración de C16:0, C18:0, *c9,t11*-CLA, *t10,c12*-CLA y la proporción de ácidos grasos saturados (AGS) y redujo el C18:1 n-9, C18:2 n-6, las proporciones de ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) y poliinsaturados (AGPI) y las proporciones de AGMI/AGS y C18:1 n-9/C18:0 y C16:1 n-7/C16:0 en la grasa subcutánea. En la GIM la suplementación de CLA en el pienso incrementó el porcentaje de C16:0, de AGS, *c9,t11* y *t10,c12* y redujo el porcentaje de C18:1 n-9 y de los AGMI, AGMI/AGS y C18:1 n-9/C18:0, pero no observamos ningún efecto sobre la proporción de C18:2 n-6 y los AGPI. El sexo tuvo influencia sobre la concentración de AG de la grasa subcutánea, pero no se observó ningún efecto del sexo sobre los AG del tejido intramuscular. La acumulación de los isómeros de CLA fue menor en los cerdos grasos que en los cerdos de genotipo magro probablemente como consecuencia de la mayor concentración de grasa de la canal en los primeros.

5.2. MATERIAL Y MÉTODOS

5.2.1. Animales y dietas

Los cuidados de los animales y los procedimientos experimentales usados en este experimento fueron aprobados por la Universidad Complutense de Madrid. Se utilizaron cuarenta cerdos castrados Ibérico x Duroc, mitad machos y mitad hembras, con un peso de 120 ($\pm 2,83$) kg. Los cerdos se distribuyeron al azar en ocho corrales de cinco animales (CM y CF). Los piensos se formularon con 2 niveles (0 y 1 %) de un aceite

comercial enriquecido con CLA (CLA-60 Loderstar, Bélgica) que contenía aproximadamente un 60% de isómeros de CLA en su forma éster (30% *cis*-9, *trans*-11 y 30% de *trans*-10, *cis*-12). Todos los piensos fueron formulados para proporcionar niveles de proteína y energía similares. Las dietas se proporcionaron *ad libitum* durante 42 días. Antes del comienzo del experimento, todos los cerdos fueron sometidos a la misma alimentación y manejo. Los cerdos fueron sacrificados en un matadero local con un peso vivo de 153.3 (\pm 3,0) kg.

Los ingredientes, la composición química y los principales AG de los piensos experimentales se muestran en la **Tabla 1**. La determinación de la composición de los alimentos (por triplicado) siguiendo la metodología propuesta por la AOAC (2005). Los AG de la dieta se extrajeron y se cuantificaron por el procedimiento del one-step descrito por Sukhija y Palmquist (1988) a partir de muestras liofilizadas. El ácido pentadecanoico (C15:0) (Sigma-Aldrich, Madrid, España) fue utilizado como patrón interno. Los ésteres metílicos de AG se analizaron mediante cromatografía de gases utilizando un aparato Hewlett-Packard HP-6890 (Avondale, PA, EE.UU.) equipado con un detector de ionización de llama y una columna capilar HP-Innowax (100 x 0,32 x 0,25 de polietilenglicol) (Kramer *et al.*, 1998).

5.2.2. Toma de muestras y análisis químico

En el sacrificio se registraron los pesos de la canal, el rendimiento de la canal, los pesos de los jamones, paletas, chuleteros, costillas y panceta. Se tomaron muestras de grasa subcutánea y del músculo *L. dorsi* a nivel de la última costilla, las cuales fueron pesadas y envasadas al vacío en un envase con bajos niveles de oxígeno, y se conservaron congeladas a -20 ° C para el análisis de AG. Se tomaron también muestras de tejido hepático (aproximadamente 30 g) se colocaron en nitrógeno líquido y se almacenaron a -80 ° C para los análisis de actividad enzimática.

Los lípidos de la grasa subcutánea y de la grasa intramuscular del músculo *L. dorsi* (dorsal largo) se extrajeron con una mezcla de cloroformo / metanol (2:1 v / v) siguiendo el procedimiento descrito por Folch, Lees, y Stanley (1957). Los extractos de los lípidos fueron metilados en presencia de metóxido de sodio (Christie, 1982) y se analizaron como se describen para los AG del pienso.

5.2.3. Ensayos enzimáticos

La actividad de las enzimas málico (ME) y glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) se determinó en extractos de hígado siguiendo la metodología descrita por Álvarez *et al.* (2000). Las cantidades pesadas de las muestras de tejido hepático fueron homogeneizadas con un equipo de rotor/estátor (Turrax Ultra T18basic IKAw; Labortechnik, Staufen, Alemania) en 3 vol. de tampón (20 mM Tris-HCl, 0.25-M de sacarosa, 2 mM-etilendiamina-tetracetato (EDTA), pH 7.4 y centrifugados a 20,000 rpm durante 40 min. Las actividades de la G6PD y la ME se determinaron utilizando ensayos espectrofotométricos después de la formación de NADPH a 340 nm. La concentración hepática de la proteína soluble se determinó por el método de Bradford (1976) usando albúmina sérica bovina como estándar. Todos los ensayos enzimáticos se realizaron a 37°C. Todos los ensayos enzimáticos se realizaron por triplicado. Las unidades de actividad enzimática (IU) se definen como los μmol de sustrato convertido en producto por minuto a la temperatura de ensayo, expresados por mg de proteína soluble del hígado (actividad específica). Todos los productos químicos fueron suministrados por Amersham Biosciences (Upsala, Suecia) y por Sigma-Aldrich (Madrid, España).

5.2.4. Análisis estadístico

Los datos fueron analizados utilizando el procedimiento GLM de SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC, 2002). Se estudiaron los efectos del nivel de CLA en la dieta, el sexo y la interacción CLA por el sexo. La unidad experimental fue el corral para todos los análisis realizados. Los datos se presentan como la media y el error estándar de la media. El peso inicial fue utilizado como covariable para las variables productivas, y el peso canal para las características de la canal. Cuando las covariables no fueron significativas ($P > 0.05$), fueron eliminadas del modelo. Las diferencias se consideraron significativas con un valor $P < 0.05$ y los valores de P entre 0.05 y 0.10 se consideraron una tendencia.

5.3. RESULTADOS

La incorporación de CLA en el pienso y el sexo no influyeron ($P > 0.05$) sobre la ganancia media diaria de peso (GMD), consumo de alimento (ADFGI) y la conversión de alimentos (FCE). La GMD, ADFGI Y FCE fueron 785,7 g, 3,59 kg y 4,57 kg/kg y 79,2 g, 3,42 kg y 4,31 kg/kg para los tratamientos 0 y 1 % de CLA respectivamente. Los

valores de ADG, ADFI FCE fueron, 809,5 g, 3,61 kg y 4,46 kg/kg para los CM y 771,4 g, 3,40 kg y 4,41 kg/kg para las CF.

La incorporación de CLA en el pienso no tuvo ningún efecto sobre las características de la canal (**Tabla 2**). La dieta con CLA tendía a incrementar el peso al sacrificio en los CM comparados con las CF ($P < 0.05$) y aumentó la suma del peso combinado de jamones, paletas y lomos ($H + F + L$) ($P = 0.10$). El peso de las paletas (FW) fue mayor en los CM que en las CF ($P = 0.03$), mientras que el peso de tocino (BW) tendía a ser mayor en las CF que en los CM ($P = 0.05$). La interacción de la suplementación de CLA x Sexo no tuvo efecto ($P > 0.05$) para todas las características de la canal estudiadas.

El efecto de la incorporación de CLA en el pienso y el sexo sobre el perfil de AG de la grasa dorsal subcutánea se presenta en la **Tabla 3**. La incorporación de CLA aumentó la proporción de los AG, C12:0, C14:0, C16:0, C18:0 y la proporción de AGS aumentó de un 40,02% a un 44,48% en los cerdos alimentados con piensos que incorporaban un 1 % de CLA en comparación con los que recibieron la dieta control. La concentración de C18:1 n-9, AGMI, C18:2 n-6 y AGPI disminuyó en los cerdos alimentados con piensos suplementados con CLA. El CLA aumentó la proporción de los isómeros *c9,t11*-CLA y *t10,c12*-CLA en la grasa dorsal subcutánea y redujo las proporciones de AGMI/AGS, C18: 1 n-9/C18:0 y C16:1 n-7/C16:0. El aumento de C18:0 resultó significativo sólo en el tejido adiposo subcutáneo.

La grasa dorsal subcutánea de los CM presentó mayores concentraciones de C18: 0 y AGS ($P < 0.05$) y menores proporciones de AGMI y de los relaciones AGMI / AGS y C18: 1 n-9/C18: 0 que los de las CF, mientras que el porcentaje de C16:0 ($P = 0.07$) y C18:1 n-9 ($P = 0.06$) tendieron a ser mayor y menor respectivamente en los CM que en las CF.

De acuerdo con los resultados que se muestran en la **Tabla 4**, la GIM del músculo *L. dorsi* de los cerdos alimentados con CLA se incrementó en el porcentaje de C12:0, C14:0, C16:0, C16:1 n-7, AGS, *c9,t11*-CLA y *t10,c12*-CLA, también se redujo la concentración C18:1 n-9 y de AGMI y las proporciones de AGMI / AGS y C18:1 n-9 / C18:0 y no se observó ningún efecto sobre el porcentaje de C18:2 n-6 y la concentración de AGPI. El sexo no tuvo efecto ($P > 0.05$) sobre el perfil de AG de la GIM (**Tabla 4**). Sin embargo, los CM tendieron ($P < 0.10$) a tener mayores proporciones de C18:0, AGS y *c9,t11*-CLA y menores proporciones de AGMI, AGMI/ AGS y C18:1

n-9/C18: 0 que las CF. La interacción de la suplementación de CLA x Sexo no tuvo ningún efecto sobre los AG.

La proporción de CLA acumulada en el tejido adiposo subcutáneo fue de 0,33% y 0,18% respectivamente para los isómeros *c*9,*t*11-CLA y *t*10,*c*12-CLA en los animales que consumieron el pienso con un 1% CLA. En la GIM la proporción de *c*9,*t*11-CLA y *t*10,*c*12-CLA resultó de 0.07% y 0.01% respectivamente. La incorporación de CLA en el pienso, el sexo y la interacción del suplemento de CLA x sexo no tuvo ningún efecto sobre la actividad de G6PD y ME en el hígado (**Tabla 5**).

5.4. TABLAS TRABAJO EXPERIMENTAL 2

Tabla 1. Ingredientes (%), composición química analizada (%) y composición de ácidos grasos (%) de los piensos experimentales.

Ingredientes (%)	0% CLA	1% CLA
Cebada	50.0	50.0
Trigo	22.0	22.0
Maíz	13.6	13.6
Harina de soja (44%)	11.0	11.0
Aceite de soja	1.0	0.0
Aceite enriquecido con CLA ¹	0.0	1.0
Carbonato cálcico	1.3	1.3
Fosfato bicalcico	0.5	0.5
Sal fina	0.4	0.4
Corrector vitamínico-mineral	0.3	0.3
Composición calculada		
Energía neta (kcal kg ⁻¹)	2222	2222
Composición química (%)		
Cenizas	4.90	4.90
Fibra bruta	4.74	4.74
Proteína bruta	14.42	14.42
Grasa bruta	3.80	4.30
Composición de ácidos grasos (%)		
C12:0	0.05	0.07
C14:0	0.29	0.25
C16:0	15.89	15.74
C16:1 n-9	0.06	0.05
C16:1 n-7	0.16	0.15
C18:0	3.28	3.21
C18:1 n-9	21.11	21.77
C18:1 n-7	1.07	0.96
C18:2 n-6	52.02	44.01
C18:3 n-3	5.37	4.26
c9,t11-CLA	0.00	4.45
t10,c12-CLA	0.00	4.38
Σ AGS ²	19.51	17.87
Σ AGMI ²	22.40	22.93
Σ AGPI ²	57.40	57.10

¹CLA (60% isómeros de CLA, mitad *cis*-9,*trans*-11 y mitad *trans*-10, *cis*-12) suministrado por LoderstarTM (Wormerveer, Holanda)

²ΣAGS, ΣAGMI, ΣAGPI = suma de la concentración de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados respectivamente.

Tabla 2. Efecto de la incorporación de CLA en el pienso y el sexo sobre las características de la canal.

Variables ¹	% CLA en pienso		Sexo(S)		SEM ²	P-valor			
	0	1	MC ¹	HC ¹		CLA	Sexo(S)	CLA × S	PC ¹
Peso inicial (kg)	121.6	118.4	123.5	116.5	2.83	0.53	0.18	0.56	-
Peso sacrificio (kg)	154.6	151.8	157.5	148.9	3.00	0.50	0.05	0.54	-
Peso canal (kg)	123.1	119.8	124.7	118.3	2.56	0.37	0.09	0.61	-
Rendimiento canal (%)	79.6	78.9	79.1	79.4	0.36	0.17	0.64	0.85	-
Peso jamón (kg)	28.9	29.5	29.1	29.2	0.24	0.12	0.76	0.91	<0.01
Peso paleta (kg)	22.3	22.4	22.7 ^a	22.0 ^b	0.20	0.57	0.03	0.96	<0.01
Peso lomo derecho (kg)	2.0	2.0	2.9	2.1	0.06	0.97	0.20	0.73	<0.01
Jamón+paleta+lomo (kg)	53.2	53.9	53.8	53.3	0.29	0.10	0.32	0.84	<0.01
Peso costillar (kg)	5.3	5.3	5.3	5.3	0.10	0.89	0.89	0.75	<0.01
Peso panceta (kg)	12.8	12.7	12.6	12.9	0.13	0.49	0.05	0.17	<0.01
Espesor graso dorsal (cm)	7.5	7.3	7.3	7.5	0.21	0.65	0.41	0.10	<0.01
Espesor de la grasa subcutanea del jamón (cm)	7.4	7.3	7.2	7.5	0.20	0.78	0.23	0.96	<0.01
Grasa intramuscular del <i>L. dorsi</i> (%)	9.4	10.6	10.2	9.8	0.63	0.21	0.67	0.96	0.97

¹MC = machos castrados. HC = hembras castradas. PC = peso canal.

²SEM = error estandar de la media

^{a,b}Valores de una misma fila sin un superíndice común son diferentes significativamente ($P < 0.05$).

Tabla 3. Perfil de ácidos grasos (%) de la grasa dorsal subcutánea de acuerdo con los niveles de CLA en el pienso y el sexo.

Ácidos grasos	% CLA en pienso		Sexo (S)		SEM ²	P-valor		
	0	1	MC ¹	HC ¹		CLA	S	CLA × S
C12:0	0.10 ^b	0.13 ^a	0.11	0.12	0.002	<0.01	0.40	0.14
C14:0	1.59 ^b	2.06 ^a	1.83	1.82	0.032	<0.01	0.77	0.93
C16:0	25.52 ^b	27.20 ^a	26.60	26.12	0.19	<0.01	0.07	0.77
C16:1 n-7	2.04	1.99	2.00	2.04	0.044	0.43	0.52	0.69
C18:0	12.82 ^b	15.08 ^a	14.27 ^a	13.63 ^b	0.221	<0.01	0.05	0.88
C18:1 n-9	43.25 ^a	38.94 ^b	40.69	41.49	0.271	<0.01	0.06	0.52
C18:1 n-7	2.45	2.46	2.42	2.51	0.062	0.99	0.42	0.81
C18:2 n-6	10.89 ^a	10.38 ^b	10.52	10.75	0.16	0.03	0.35	0.51
C18:3 n-3	1.34	1.23	1.30	1.27	0.042	0.05	0.60	0.55
<i>c</i> 9, <i>t</i> 11-CLA	0.00 ^b	0.33 ^a	0.17	0.16	0.009	<0.01	0.87	0.87
<i>t</i> 10, <i>c</i> 12-CLA	0.00 ^b	0.18 ^a	0.09	0.09	0.005	<0.01	0.89	0.89
Σ AGS ³	40.02 ^b	44.48 ^a	42.81 ^a	41.69 ^b	0.342	<0.01	0.02	0.80
Σ AGMI ³	47.74 ^a	43.39 ^b	45.11 ^b	46.04 ^a	0.293	<0.01	0.03	0.64
Σ AGPI ³	12.23 ^a	11.61 ^b	11.82	12.02	0.162	0.01	0.33	0.75
Σ AGMI/Σ AGS	1.19 ^a	0.98 ^b	1.05 ^b	1.10 ^a	0.014	<0.01	0.02	0.96
C18:1 n-9/C18:0	3.37 ^a	2.58 ^b	2.85 ^b	3.04 ^a	0.05	<0.01	0.04	0.99
C16:1 n-7/C16:0	0.08 ^a	0.07 ^b	0.08	0.08	0.002	<0.01	0.15	0.64

¹MC = machos castrados. HC = hembras castradas.²SEM = error estandar de la media³ΣAGS, ΣAGMI, ΣAGPI = suma de la concentración de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados respectivamente.^{a,b}Valores de una misma fila sin un superíndice común son diferentes significativamente ($P < 0.05$).

Tabla 4. Perfil de ácidos grasos de la grasa intramuscular del Longissimus dorsi (%) de acuerdo con los niveles de CLA en el pienso y el sexo.

Ácidos grasos	% CLA en pienso		Sexo (S)		SEM ²	P-valor		
	0	1	MC ¹	HC ¹		CLA	S	CLA × S
C12:0	0.05 ^b	0.06 ^a	0.06	0.05	0.001	0.01	0.32	0.16
C14:0	1.09 ^b	1.26 ^a	1.19	1.15	0.033	<0.01	0.25	0.27
C16:0	30.95 ^b	32.76 ^a	32.00	31.70	0.360	<0.01	0.41	0.57
C16:1 n-7	2.53 ^b	2.98 ^a	2.69	2.82	0.110	<0.01	0.26	0.46
C18:0	12.36	12.85	12.96	12.25	0.360	0.19	0.05	0.73
C18:1 n-9	46.62 ^a	43.65 ^b	44.68	45.59	0.592	<0.01	0.12	0.12
C18:1 n-7	2.99	2.97	2.94	3.02	0.110	0.85	0.44	0.91
C18:2 n-6	3.03	3.04	3.05	3.02	0.282	0.96	0.91	0.15
C18:3 n-3	0.37	0.35	0.38	0.34	0.031	0.60	0.26	0.15
<i>c9,t11</i> -CLA	0.00 ^b	0.07 ^a	0.04	0.03	0.004	<0.01	0.07	0.07
<i>t10,c12</i> -CLA	0.00 ^b	0.01 ^a	0.01	0.00	0.002	<0.01	0.18	0.18
Σ AGS ³	44.45 ^b	46.92 ^a	46.21	45.16	0.611	<0.01	0.10	0.54
Σ AGMI ³	52.15 ^a	49.61 ^b	50.32	51.44	0.670	<0.01	0.10	0.23
Σ AGPI ³	3.40	3.47	3.29	3.39	0.182	0.77	0.29	0.15
Σ AGMI/Σ AGS	1.18 ^a	1.05 ^b	1.09	1.14	0.030	<0.01	0.09	0.43
C18:1 n-9/C18:0	3.70 ^a	3.45 ^b	3.47	3.68	0.081	0.01	0.06	0.54
C16:1 n-7/C16:0	0.08 ^b	0.09 ^a	0.082	0.087	0.002	0.03	0.17	0.56

¹MC = machos castrados.HC = hembras castradas.

²SEM = error estandar de la media

³ΣAGS, ΣAGMI, ΣAGPI = suma de la concentración de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados respectivamente.

^{a,b}Valores de una misma fila sin un superíndice común son diferentes significativamente ($P < 0.05$).

Tabla 5. Influencia de la incorporación de CLA en el pienso y del sexo sobre la actividad de las enzimas G6PD y ME (IU mg-1 de proteína soluble) en el hígado.

Enzima	% CLA en pienso		Sexo(S)			P-valor		
	0	1	MC ¹	HC ¹		CLA	S	CLA × S
G6PD ^a	0.052	0.049	0.055	0.045	0.005	0.65	0.19	0.18
ME ^b	0.013	0.015	0.014	0.014	0.002	0.67	0.87	0.51

¹MC = machos castrados; HC = hembras castradas.

²SEM = error estándar de la media.

^aG6PD (glucosa-6-fosfato deshidrogenasa)

^bME (enzima málico)

6. TRABAJO EXPERIMENTAL 3

El ácido linoléico conjugado (CLA) altera la composición de la grasa del calostro y de la leche y el rendimiento de las cerdas reproductoras durante la última semana de gestación y la lactación.

Conjugated linoleic acid (CLA) during last week of gestation and lactation alters colostrum and milk fat composition and performance of reproductive sows.

6. TRABAJO EXPERIMENTAL 3

6.1. RESUMEN

Los objetivos de este experimento fueron estudiar el efecto de una fuente comercial de ácido linoleico conjugado (CLA) suplementada en el pienso, durante la última semana de gestación y toda la lactación así como durante el período de postdestete, sobre el rendimiento de las cerdas, el crecimiento de los lechones y la transferencia de CLA en el calostro y la leche. El experimento se diseñó para evaluar tanto el efecto de la dieta de las cerdas suplementadas con CLA durante la lactación como en los lechones recién destetados. Por lo tanto se dispusieron cuatro tratamientos organizados de forma factorial para los lechones, con dos tratamientos experimentales en las cerdas (0 vs 10 g/kg de CLA) y dos tratamientos en lechones destetados (0 vs 10 g/kg de CLA). Inmediatamente después del parto, se recogieron 10 ml de calostro de las glándulas funcionales de cada cerda. El día 23 después del parto también se recogieron muestras de leche. Se observó un menor espesor de grasa dorsal después de 28 días de lactación en todos los grupos, pero la pérdida fue mayor para el grupo control que el grupo CLA ($P < 0.004$). No se observó efecto de la suplementación de CLA en el pienso sobre el contenido de grasa del calostro, pero si se observó una menor concentración de la grasa de la leche en las cerdas alimentadas con la dieta que incorporaba el CLA ($P < 0.01$). Las cerdas alimentadas con una dieta enriquecida de CLA (1%) durante la gestación y la lactación aumentan la concentración de CLA y modifican la concentración de ácidos grasos (AG) en el calostro, la leche y los tejidos de lechones. La dieta con CLA produjo mayor concentración de ácidos grasos saturados (AGS) y menor concentración de ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) en todos los casos, pero sin alteración de la concentración total de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI). La dieta suplementada con CLA incrementó las proporciones de C17: 0 ($P = 0.007$), C18: 0, AGS, $c9,t11$ y $t10,c12$ ($P < 0.001$) y disminuyó la proporción de C16:1n-7 ($P < 0.001$), AGMI ($P < 0.05$), AGMI / AGS ($P < 0.01$), C16:1n-7/C16:0 y C18:1 n-9/C18:0 ($P < 0.001$) en el calostro. La dieta con CLA tuvo una influencia positiva sobre el C14:0, C15:1, C16:0, C18:0, $c9,t11$, $t10,c12$, C20:0, C20:1, C20:5n-3 y las proporciones de AGS ($P < 0.001$), y un efecto negativo sobre los AG C16:1n-9, C16:1n-7, C17:1, C18:1n-9, C20:4n-6, AGMI, AGMI / AGS, C16:1n-7/C16: 0 y C18:1n-9/C18:0 ($P < 0.001$) en la leche. La administración de CLA a las cerdas redujo la pérdida de espesor de grasa dorsal durante el período de

lactación y permitió un mayor peso del lechón al destete. No hubo efecto de la dieta de las cerdas o de los lechones sobre el resto de las características productivas.

6.2. MATERIAL Y MÉTODOS

6.2.1. Animales y dietas experimentales

Treinta y cuatro cerdas (Landrace x Large White) del tercer y cuarto parto y con un peso uniforme, en el rango de 260-280 kg, fueron seleccionadas al azar y asignadas a dos tratamientos dietéticos: una dieta control ($n = 17$) y una dieta enriquecida con 10 g/kg de CLA ($n = 17$). El CLA se incluyó a expensas del 1% de manteca incluida en las dietas de las cerdas y los lechones.

Las cerdas se alojaron en corrales individuales (2,2 x 2,4 m) con suelo de hormigón enrejillado parcialmente con listones de metal. La zona destinada para los lechones (1,0 x 1,3 m) se cubrió parcialmente, y se instalaron lámparas de calor durante la primera semana después del nacimiento.

Las dietas experimentales se proporcionaron en forma de gránulos y fueron formuladas para suministrar la misma cantidad de aminoácidos esenciales digestibles por MJ NE. Los ingredientes, la composición química y los principales AG de las dietas experimentales de las cerdas se muestran en la **Tabla 1**. Las dietas se proporcionaron desde los 107 días de gestación hasta el destete (28 días después del parto). Las cerdas fueron alimentadas dos veces al día y tuvieron acceso *ad libitum* al agua. Desde el día 108 hasta el día 111 de gestación, recibieron unas raciones diarias de 25,5 MJ NE. Alrededor del parto, recibieron 20 MJ de NE el día NE, seguido de 20-25 MJ NE en los 2-3 días post parto. A partir de entonces, los piensos se proporcionaron para el consumo *ad libitum*.

Al destete, 288 lechones de 28 ± 3 días de vida ($7,41 \pm 0,32$ kg de peso corporal), la mitad machos enteros y la mitad hembras, de los dos tratamientos experimentales en lactación (144 por tratamiento) fueron seleccionadas al azar y sometidos a una prueba de alimentación de 35 días de duración. Cualquier lechón con signos de la enfermedad fue descartado del experimento. Los cerdos fueron asignados al azar dentro de los tratamientos anteriores y las sub-clases de sexo en dos salas idénticas de ambiente controlado, cada uno con 24 corrales, con capacidad para alojar 6 cerdos cada uno, proporcionando $0,25 \text{ m}^2$ de espacio por los lechones, con piso totalmente enrejillado. La

temperatura ambiental inicial se mantuvo a 29 °C y disminuyó un 1 °C cada semana hasta alcanzar la temperatura ambiente de 24 °C.

El experimento se diseñó para evaluar tanto el efecto de la suplementación de CLA en el pienso de las cerdas en lactación como en los lechones recién nacidos. Por lo tanto, hubo cuatro tratamientos para los lechones siguiendo un diseño factorial, con dos dietas experimentales en las cerdas (0 vs 10 g/kg de CLA) y dos niveles de CLA en el pienso de los lechones destetados (0 vs 10 g/kg de CLA).

Una vez destetados, los lechones recibieron dos dietas diferentes, prestarter (28 a 42 días de edad) y arranque o starter (42 a 63 días de edad), y dos diferentes tratamientos experimentales para cada dieta (prestarter y de arranque): una dieta control (n = 24) y una dieta enriquecida con 10 g/kg de CLA (n = 24). Todas las dietas de los lechones se proporcionaron en forma de gránulo y se formularon para suministrar la misma cantidad de aminoácidos esenciales digestibles por MJ NE. Los ingredientes, la composición química y los principales AG de los piensos experimentales de los lechones se muestran en la **Tabla 1**.

6.2.2. Mediciones y toma de muestras

Inmediatamente después del parto, se recogieron 10 ml de calostro de las glándulas mamarias de cada cerda. El día 23 después del parto se recogieron muestras de leche. La leche (10 ml) se obtuvo mediante el ordeño de las mamas, tras una inyección intramuscular en el cuello de 3 ml de oxitocina (comercial Ganadil Pituit; Invesa, Madrid). Las muestras fueron congeladas inmediatamente para la extracción de lípidos y el análisis de AG.

Se anotó visualmente la condición corporal de las cerdas al parto Las cerdas y al destete de acuerdo a una escala progresiva del 1 al 5, siendo 1 - excesivamente delgadas, 2 - moderadamente fina, 3 - condición ideal, 4 - moderadamente grasa y 5 - exceso de grasa.

El espesor de grasa dorsal se midió por ultrasonidos en los días del parto y el destete, utilizando un Renco Lean Meater® (Renco Corporation, Minneapolis, EE.UU.). Las medidas se tomaron a 65 mm de la línea media, a nivel de la última costilla.

Después del destete, se registraron el consumo de piensos del corral y los pesos corporales individuales (PC) a los 28, 42 y 63 días de edad. La ganancia media diaria (GDP, g / día), consumo medio de pienso (CAL, en kg / día), y la relación entre el

consumo y la ganancia de peso (FGR, en kg / kg) se calculó para los dos sub-periodos (prestarter y arranque) y el periodo experimental fue de 35 días (28 a 63 días de edad). Al destete 6 lechones por tratamiento se sacrificaron con un peso cercano a la media del grupo. Los cerdos se sacrificaron mediante inyección intracardiaca de una dosis letal (3 ml) de solución de pentobarbital (Dolethal, Vétoquinol, LURE, Cedex, Francia, 20 g de sodio pentobarbital / mL), y posteriormente se pesaron y se desangraron. Se tomó una muestra del músculo largo dorsal a nivel de la última costilla y se envasó al vacío. Las muestras se mantuvieron congeladas a -80 ° C hasta su análisis.

6.2.3. Análisis de muestras

La determinación de la composición de los piensos (por triplicado) se realizó siguiendo la metodología propuesta por la AOAC (2005). Los AG del pienso se extrajeron y se cuantificaron por el procedimiento del one-step descrito por Sukhija y Palmquist (1988), a partir de muestras liofilizadas. El ácido pentadecanoico (C15:0) (Sigma-Aldrich, Madrid, España) fue utilizado como patrón interno. Los ésteres metílicos de AG se analizaron mediante cromatografía de gases utilizando un aparato Hewlett-Packard HP-6890 (Avondale, PA, EE.UU.) equipado con un detector de ionización de llama y una columna capilar HP-Innowax (100 x 0,32 x 0,25 de polietilenglicol) (Kramer *et al.*, 1998).

Los lípidos del calostro, la leche e intramusculares se extrajeron a partir de muestras liofilizadas con una mezcla de cloroformo / metanol (2:1 v / v) siguiendo el procedimiento descrito por Folch, Lees, y Stanley (1957).

Los extractos lipídicos fueron metilados en presencia de metóxido de sodio (Christie, 1982) y se analizaron como se describe para los AG de la dieta.

6.2.4. Análisis estadístico

El análisis de varianza (ANOVA) se llevó a cabo para evaluar el efecto de la dieta sobre los rendimientos productivos y la composición del calostro, la leche y los tejidos de los lechones. En los lechones destetados, el efecto del sexo, la inclusión de CLA en la dieta de las cerdas y la inclusión de CLA en la dieta de lechones se analizaron mediante un análisis factorial (2 x 2 x 2). Se calcularon los principales efectos y las interacciones. Los datos fueron analizados usando la versión 9.1 de SAS (2002). No se observó efecto significativo del sexo, por lo que fue retirado del modelo.

6.3. RESULTADOS

Las principales características productivas de las cerdas durante la lactación se muestran en la **Tabla 2**. No se observó efecto de la dieta de CLA para la ingestión de alimento durante el periodo de lactación, número de lechones destetados y mortalidad de lechones. No se observaron diferencias para el peso inicial de las cerdas, espesor graso dorsal, condición corporal e ingestión diaria durante el periodo de lactación. Se registró un espesor graso dorsal inferior después de 28 días de lactación en todos los grupos y la pérdida fue mayor para el grupo control que el grupo con CLA. El espesor graso al destete fue 2 mm mayor en las cerdas alimentadas con la dieta de CLA ($P < 0.004$).

El rendimiento de los lechones durante los 28 días del período de lactación se muestra en la **Tabla 2**. No se observaron diferencias en el peso de los lechones al nacimiento, pero la inclusión de CLA en las dietas de las cerdas produjo una mayor ganancia diaria de peso de los lechones y peso final ($P < 0.001$). No se observó efecto del sexo sobre el peso de los lechones.

La determinación de la concentración de grasa en el calostro y su composición de AG se muestran en la **Tabla 3**. No hubo efecto de tratamiento dietético para el contenido de grasa en el calostro. Las modificaciones más notables para la composición de AG del calostro se observaron en la dieta que incorporaba el CLA. La dieta con CLA tuvo una influencia positiva sobre las proporciones del C17:0 ($P = 0.007$), C18: 0, AGS, $c9,t11$ y $t10,c12$ ($P < 0.001$) y un efecto negativo en las proporciones de C16:1n-7 ($P < 0.001$), AGMI ($P < 0.05$), AGMI / AGS ($P < 0.01$), C16:1n-7 / C16:0 y C18:1n-9/C18:0 ($P < 0.001$) mientras que el resto de AG no se vieron afectadas por la dieta con CLA.

La grasa de la leche y su composición de AG se muestran en la **Tabla 4**. Observamos una menor concentración de grasa en la leche de las cerdas alimentadas con la dieta que contenía CLA ($P < 0.01$). La dieta con CLA tuvo una influencia positiva sobre las proporciones de C14:0, C15:1, C16:0, C18:0, $c9,t11$, $t10,c12$, C20: 0, C20:1, C20:5n-3 y AGS ($P < 0.001$) y un efecto negativo sobre el C16:1n-9, C16:1n-7, C17:1, C18:1n-9, C20:4n-6, AGMI, AGMI/AGS, C16:1n-7/C16: 0 y C18:1n-9/C18:0 ($P < 0.001$).

No hubo efecto de las dietas de las cerdas y los lechones sobre las principales características productivas (**Tabla 5**), ni se observaron interacciones en la productividad de lechones desde el destete (28 días) a los 63 días de vida. Los valores medios de la ganancia media diaria, consumo de alimento y eficiencia alimentaria de los lechones fueron $321,5 \pm 44,8$ g / día, $442,9 \pm 44,5$ y $0,72 \pm 0,062$ respectivamente.

TABLAS TRABAJO EXPERIMENTAL 3

Tabla 1. Ingredientes (g/kg de pienso), análisis calculado (%) y composición química (%) de los piensos experimentales.

	Pienso cerdas		Pienso lechones (28 - 42 d)		Pienso lechones (42 - 63 d)	
	S-CT ^a	S-CLA ^b	P-CT ^c	P-CLA ^d	P-CT ^c	P-CLA ^d
Ingredientes (g/kg)						
Cebada	333	333	228	228	300	300
Maíz	120	120	235	235	144	144
Trigo	50	50	100	100	230	230
Harina de soja (44)	180	180	80	80	191	191
Harina de girasol (35)	200	200				
Pulpa de remolacha	50	50				
Melaza	10	10				
Haba de soja extrusionada			100	100	80	80
Leche en polvo dulce			125	125	0	0
Harina de pescado (70)			76	76	0	0
Manteca	28.0	18.0	26.0	16.0	19.0	9.0
CLA ^e	0.0	10.0	0.0	10.0	0.0	10.0
Carbonato cálcico	10.0	10.0	7.6	7.6	7.4	7.4
Fosfato bicálcico	8.0	8.0	6.7	6.7	10.7	10.7
Cloruro sódico	5.0	5.0	1.5	1.5	4.0	4.0
L-lisina (50 g/kg)	1.6	1.6	7.7	7.7	7.3	7.3
DL-metionina (980 g/kg)	0.1	0.1	2.2	2.2	1.4	1.4
L-treonina (999 g/kg)			1.7	1.7	1.5	1.5
Corrector vitamínico-mineral ^f	3.0	3.0	4.0	4.0	4.0	4.0
Análisis calculado (%)						
Energía neta (MJ/kg)	9.0	9.0	10.5	10.5	10.0	10.0
Lisina	1.4	1.4	1.5	1.5	1.3	1.3
Metionina+Cistina	0.7	0.7	0.9	0.9	0.8	0.8
Treonina	0.7	0.7	0.9	0.9	0.8	0.8
Triptofano	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Composición química (%)						
Proteína bruta	20.5	20.5	20.3	19.8	18.3	18.7
Grasa bruta	5.3	4.6	4.7	5.0	4.5	4.4
Ácidos grasos (%)						
C16:0	39.9	44.8	17.9	15.8	22.1	19.8
C16:1 n-7	13.7	5.1	0.9	0.7	1.7	1.3
C18:0	4.0	7.5	6.1	5.3	8.7	7.5
C18:1 n-9	27.3	24.0	30.1	29.0	37.1	34.4
C18:2 n-6	14.1	15.2	40.4	39.4	27.0	27.2
C18:3 n-3	0.7	0.7	3.5	3.5	2.1	2.1
c9,t11-CLA ^g	0.0	1.3	0.0	2.7	0.0	3.3
t10,c12-CLA ^g	0.0	0.9	0.0	2.6	0.0	3.2
ΣAGS ^h	43.9	52.4	24.3	21.5	31.1	27.6
ΣAGMI ^h	41.2	29.5	31.6	30.2	39.7	36.5

^aS-CT= Pienso control de las cerdas, sin añadir CLA; ^bS-CLA= Pienso de las cerdas enriquecido en CLA.^cP-CT= Pienso control de los lechones, sin añadir CLA; ^dP-CLA= Pienso de los lechones enriquecido en CLA.^eAceite con ácido linoleico conjugado= 60 % isómeros de CLA (mitad *cis*-9,*trans*-11 y mitad *trans*-10,*cis*-12) suministrado por LodestarTM (Wormerveer, Holanda).^fCorrector vitamínico-mineral por kg de pienso: Vitamina A: 10,000 IU; Vitamina D₃: 2,000 IU; Vitamina E: 26.7 mg; Vitamina B₁: 1.3 mg; Vitamina B₂: 4.0 mg; Vitamina B₁₂: 0.020 mg; Vitamina B₆: 1.3 mg; Pantotenato de calcio: 13.3 mg; Ácido nicotínico: 20 mg; Biotina: 0.1 mg; Ácido fólico: 0.1 mg; Vitamina K₃: 2 mg; Hierro: 133.3 mg; Cu: 26.7 mg; Co: 0.30 mg; Zn: 133.3 mg; Mn: 76.7 mg; I: 1.3 mg; Se: 0.30 mg; Ethoxyquin: 150 mg.^gc, *cis*; t, *trans*. ^hΣAGS y ΣAGMI = suma de la concentración de ácidos grasos saturados y monoinsaturados.

Tabla 2. Influencia del pienso enriquecido con ácido linoleico conjugado (CLA) sobre el consumo de alimento, peso corporal, espesor de grasa dorsal y condición corporal de las cerdas y sobre el número de lechones vivos de nacimiento, los lechones destetados, la mortalidad y el rendimiento de los lechones destetados a lo largo de la lactación de 28 días (n = 17 cerdas por tratamiento)¹.

	Pienso de las cerdas		RMSE ^c	P-valor
	S-CT ^a	S-CLA ^b		
Lechones nacidos vivos por camada	11.87	10.86	1.94	0.140
Lechones destetados por camada	10.10	9.60	1.05	0.257
Lechones fallecidos por camada ^d	1.80	1.30	0.12	0.378
Mortalidad de lechones (%)	14.90	12.13	10.84	0.470
Consumo total de pienso (kg/sow)	106.94	107.82	4.45	0.569
Consumo medio diario (kg/d)	4.30	4.20	0.21	0.740
Espesor grasa dorsal inicial (mm)	20.93	19.38	4.66	0.350
Espesor grasa dorsal al destete (mm)	16.07	18.23	1.94	0.004
Diferencia de espesor grasa dorsal (mm)	4.11	1.95	1.94	0.004
Intervalo destete-celo (days)	5.53	5.59	1.48	0.831
Índice de condición corporal inicial ^e	2.93	2.85	0.66	0.720
Condición corporal al destete	2.54	2.57	0.49	0.900
Diferencia en el índice de condición corporal	0.34	0.32	0.49	0.900
Peso al nacimiento (kg)	1.70	1.60	0.11	0.220
Peso al destete (kg) ^f	7.02	7.80	0.53	0.001
Ganancia media diaria (g/d) ^g	223.90	247.20	21.47	0.001

¹Lechones destetados se introdujo como covariable

^aS-CT= Pienso control de las cerdas, sin añadir CLA; ^bS-CLA= Pienso de las cerdas enriquecido en CLA.

^cRMSE= raíz cuadrada del cuadrado medio del error.

^dDurante el periodo de lactación.

^eÍndice de condición corporal = escala del 1 al 5, siendo 1 – excesivamente delgado, 2 – moderadamente delgado, 3 – condición ideal, 4 – moderadamente gordo y 5 – excesivamente gordo.

^fPeso al nacimiento (P<0.001) se introdujo como covariable.

^gPeso al nacimiento (P<0.001) y el tamaño de la camada (P=0.084) se introdujeron como covariables.

Tabla 3. Influencia del pienso enriquecido con ácido linoleico conjugado (CLA) sobre la grasa del calostro (%) y la composición de ácidos grasos (%) (n = 17 cerdas por tratamiento).

	Pienso de las cerdas		RMSE ^c	P-valor
	S-CT ^a	S-CLA ^b		
Grasa bruta	3.94	4.12	1.47	0.754
C10:0	0.04	0.04	0.02	0.875
C12:0	0.04	0.04	0.02	0.493
C14:0	1.34	1.39	0.14	0.296
C15:1	0.06	0.06	0.01	0.527
C16:0	23.57	24.06	0.83	0.142
C16:1 n -9	1.40	1.37	0.12	0.499
C16:1 n -7	3.41	2.56	0.56	0.001
C17:0	0.27	0.32	0.05	0.007
C17:1	0.30	0.29	0.04	0.822
C18:0	5.78	6.94	0.63	<0.001
C18:1 n -9	38.11	36.43	2.64	0.119
C18:2 n -6	21.34	21.42	2.41	0.929
C18:3 n -3	1.24	1.31	0.19	0.359
c 9, t 11-CLA ^d	0.04	0.44	0.12	<0.001
t 10, c 12-CLA ^d	0.00	0.33	0.08	<0.001
C20:0	0.16	0.19	0.06	0.188
C20:1	0.34	0.30	0.10	0.243
C20:3 n -9	0.51	0.50	0.08	0.659
C20:4 n -6	1.34	1.26	0.23	0.387
C20:5 n -3	0.02	0.03	0.03	0.585
C22:5 n -3	0.20	0.22	0.07	0.590
C22:6 n -3	0.49	0.50	0.09	0.880
Σ AGPI ^e	25.14	25.23	2.61	0.933
Σ AGS ^e	31.19	32.99	1.23	0.001
Σ AGMI ^e	43.22	40.66	2.84	0.032
Σ AGMI / Σ AGS	1.39	1.24	0.11	0.002
C16:1 n -7 / C16:0	0.15	0.10	0.03	0.001
C18:1 n -9 / C18:0	6.64	5.32	0.76	<0.001

^aS-CT= Pienso control de las cerdas, sin añadir CLA; ^bS-CLA= Pienso de las cerdas enriquecido en CLA.

^cRMSE= raíz cuadrada del cuadrado medio del error.

^d c , cis ; t , $trans$.

^e Σ AGS, Σ AGMI, Σ AGPI = suma de la concentración de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados respectivamente.

Tabla 4. Influencia del pienso enriquecido con ácido linoleico conjugado (CLA) sobre la grasa de la leche (%) y la composición de ácidos grasos (%) (n = 17 cerdas por tratamiento).

	Pienso de las cerdas		RMSE ^c	P-valor
	S-CT ^a	S-CLA ^b		
Crude fat	5.30	4.58	0.59	0.004
C10:0	0.27	0.25	0.05	0.382
C12:0	0.04	0.04	0.01	0.207
C14:0	3.70	5.23	0.34	<0.001
C15:1	0.03	0.05	0.01	<0.001
C16:0	37.67	41.67	2.52	<0.001
C16:1 n -9	12.96	4.75	1.15	<0.001
C16:1 n -7	0.07	0.03	0.03	0.001
C17:0	0.20	0.34	0.08	<0.001
C17:1	0.31	0.19	0.08	<0.001
C18:0	3.79	6.94	0.46	<0.001
C18:1 n -9	25.79	22.31	2.98	0.006
C18:2 n -6	13.33	14.13	1.63	0.224
C18:3 n -3	0.68	0.70	0.08	0.661
<i>c</i> 9, <i>t</i> 11-CLA ^d	0.03	1.24	0.16	<0.001
<i>t</i> 10, <i>c</i> 12-CLA ^d	0.00	0.82	0.14	<0.001
C20:0	0.02	0.10	0.01	<0.001
C20:1	0.22	0.38	0.10	<0.001
C20:3 n -9	0.19	0.20	0.06	0.666
C20:4 n -6	0.46	0.37	0.07	0.007
C20:5 n -3	0.05	0.08	0.01	<0.001
C22:5 n -3	0.08	0.07	0.02	0.151
C22:6 n -3	0.10	0.10	0.03	0.877
Σ AGPI ^e	14.89	15.66	1.73	0.270
Σ AGS ^e	45.69	54.57	2.78	<0.001
Σ AGMI ^e	39.35	27.66	2.71	<0.001
Σ AGMI / Σ AGS	0.87	0.51	0.10	<0.001
C16:1 n -7 / C16:0	0.34	0.11	0.03	<0.001
C18:1 n -9 / C18:0	6.87	3.23	0.88	<0.001

^aS-CT= Pienso control de las cerdas, sin añadir CLA; ^bS-CLA= Pienso de las cerdas enriquecido en CLA.

^cRMSE= raíz cuadrada del cuadrado medio del error.

^d*c*, *cis*; *t*, *trans*.

^e Σ AGS, Σ AGMI, Σ AGPI = suma de la concentración de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados respectivamente.

Tabla 5. Influencia de la utilización de CLA en el pienso de cerdas gestantes/lactantes y/o después del destete sobre el peso de los lechones (kg), ganancia diaria de peso (ADG, g), consumo de alimento diario (ADFI, g) y eficiencia alimenticia (Ganancia: Consumo, G: F) desde el destete (28 días) a los 63 días de edad (n = 24 corrales/réplicas por tratamiento).

		Pienso de cerdas (Sd)		Pienso de lechoens (Pd)		RMSE ^e	P-valor		
		S-CT ^a	S-CLA ^b	P-CT ^c	P-CLA ^d		Sd	Pd	Sd x Pd
Peso	28 d	7.36	7.86	7.51	7.72	1.08	0.121	0.479	0.526
	42 d	10.76	11.15	10.82	11.09	1.29	0.290	0.452	0.393
	63 d	18.65	18.70	18.63	18.71	1.99	0.882	0.849	0.743
28-42 d	ADG	214.03	204.69	208.36	210.37	39.12	0.473	0.832	0.192
	ADFI	216.68	217.81	221.48	213.02	29.38	0.857	0.387	0.627
	G:F	0.98	0.92	0.92	0.97	0.13	0.181	0.277	0.083
42-63 d	ADG	440.47	416.26	436.27	420.46	74.09	0.286	0.479	0.718
	ADFI	655.85	638.09	649.49	644.46	71.47	0.417	0.809	0.405
	G:F	0.67	0.64	0.67	0.64	0.07	0.259	0.268	0.052
28-63 d	ADG	332.12	310.97	327.10	315.99	44.80	0.128	0.412	0.902
	ADFI	448.15	437.67	447.03	438.79	44.49	0.444	0.546	0.690
	G:F	0.74	0.70	0.73	0.71	0.06	0.113	0.518	0.535

^aS-CT= Pienso control de las cerdas, sin añadir CLA; ^bS-CLA= Pienso de las cerdas enriquecido en CLA.

^cP-CT= Pienso control de los lechones, sin añadir CLA; ^dP-CLA= Pienso de los lechones enriquecido en CLA.

^eRMSE= raíz cuadrada del cuadrado medio del error.

7. TRABAJO EXPERIMENTAL 4

Efecto de la administración de una dieta suplementada con ácido linoleico conjugado (CLA) sobre la composición de ácidos grasos y la actividad de las enzimas lipogénicas y lipolíticas de lechones lactantes y destetados.

Effect of dietary CLA administration on fatty acid composition and lipogenic and lipolytic enzyme activities in suckling and weaned piglets.

7. TRABAJO EXPERIMENTAL 4

7.1. RESUMEN

Los objetivos de este estudio fueron determinar los efectos de la administración de una dieta suplementada con CLA en el periodo de lactación y postdestete o sólo en el periodo de postdestete, sobre la composición de ácidos grasos (AG) y la actividad enzimática en lechones lactantes (28 d) o lechones destetados (63 d). Durante la fase de postdestete, se utilizaron 18 lechones alojados individualmente, y se aplicaron tres tratamientos experimentales ($n = 6$): (1) lechones que procedían de cerdas control y alimentadas con una dieta control (0 g de CLA / kg de dieta) (CT-CT), (2) lechones que procedían de cerdas control y alimentadas con una dieta que contenía 10 g de CLA / kg de dieta (CT-CLA), y (3) lechones alimentados con CLA que procedían de cerdas alimentadas con dietas que contenían 10 g de CLA / kg de dieta (CLA-CLA). Los lechones lactantes (28 d) procedentes de las madres alimentadas con dietas enriquecidas en CLA tuvieron una mayor concentración de ácidos grasos saturados (AGS) y una menor concentración de ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) y las relaciones AGMI/AGS, C16:1 n-7/C16:0 y C18:1 n-9/C18:0 que los lechones de madres del grupo control ($P < 0.05$) a los 28 días en la grasa subcutánea. No se detectaron concentraciones apreciables de los isómeros de CLA en la grasa subcutánea de los lechones cuyas madres habían recibido la dieta control, pero se observó una concentración de 0,44 y 0,12% de *c*9,*t*11 y de *t*10,*c*12 respectivamente en la grasa subcutánea al destete cuando se incorporó el CLA en las dietas de las cerdas. La dieta con CLA incrementó las proporciones de los isómeros *c*9,*t*11-CLA y *t*10,*c*12-CLA y los AGS ($P < 0.05$) y disminuyó las proporciones de AGMI y AGMI / AGS y C16: 1n-7/C16:0 en el hígado ($P < 0.05$). En los lechones a los 63 d, la actividad de ME (enzima málico) en la grasa subcutánea fue menor en los grupos en los que se incluyó el CLA en las dietas de las cerdas y/o las dietas de arranque de los lechones o sólo en lechones destetados con dietas de arranque que en el grupo que no recibió ningún suplemento de CLA ($P < 0.05$). No hubo efecto de la dieta de CLA sobre la actividad de la L3HOAD en el corazón, en la actividad de la G6PD ni tampoco en la ME en el hígado. Aunque la concentración de *c*9,*t*11-CLA y *t*10,*c*12-CLA observada en la grasa subcutánea del lechón después del destete es distinta reflejando la alimentación a la que se ha sometido a la madre dicha diferencia desaparece en la grasa del lechón al recibir una dieta post-

destete enriquecida con CLA. De esta forma la concentración de los isómeros en lechones alimentados solo con CLA tras el destete fue similar a la observada en los lechones alimentados con una dieta que incorpora CLA durante todo el período experimental. De acuerdo con esta información, puede deducirse que existe una saturación en la acumulación de isómeros de CLA en los tejidos de los cerdos.

7.2. MATERIAL Y MÉTODOS

7.2.1. Animales y dietas experimentales

Treinta y cuatro cerdas (Landrace x Large White) de tercer y cuarto parto, con un peso uniforme en el rango de 260-280 kg fueron seleccionadas al azar y asignadas a dos tratamientos experimentales: una dieta control (S-CT) ($n = 17$) y una dieta enriquecida con 10 g/kg de CLA (S-CLA) ($n = 17$). El CLA se incluyó a expensas de 1% de manteca incluida en las dietas de las cerdas y los lechones.

Las cerdas se alojaron en corrales individuales (2,2 x 2,4 m) con suelo de hormigón parcialmente enrejillado con listones de metal.

Las dietas experimentales (**Tabla 1**) se proporcionaron en forma de gránulos y fueron formuladas para suministrar la misma cantidad de aminoácidos esenciales digestibles por MJ NE. Las dietas experimentales se empezaron a suministrar a los 107 días de gestación y hasta el destete (28 días después del parto). Las cerdas recibieron alimento dos veces al día y teniendo en todo momento libre acceso al agua de bebida. Desde el día 108 hasta el día 111 de gestación, recibieron unas raciones diarias de 25,5 MJ NE. Alrededor del parto, recibieron 20 MJ de NE el día NE, seguido de 20-25 MJ NE en los 2-3 días post parto. A partir de entonces, los piensos se proporcionaron para el consumo *ad libitum*.

En el momento del destete se seleccionaron al azar 6 cerdas por tratamiento y se seleccionó un lechón macho ($7,44 \pm 0,34$ kg peso vivo) por cada cerda y se sacrificó para estudiar el efecto del CLA en la alimentación de las cerdas sobre la actividad enzimática y la composición de ácidos grasos de los lechones al destete. Además, 6 cerdas del grupo S-CT y 12 del grupo S-CLA también fueron seleccionados al azar y se seleccionó un lechón macho por cerda y se alojaron de forma individual en un corral de $0,25 \text{ m}^2$ con suelo enrejillado para estudiar el efecto de la incorporación del CLA en la

alimentación de las cerdas y/o de los lechones destetados durante la fase de postdestete (de 28 a 63 d de edad) sobre la actividad enzimática y la composición de ácidos grasos. Los lechones tuvieron acceso libre al alimento y al agua. La temperatura ambiente inicial se mantuvo a 29°C y disminuyó un 1°C cada semana hasta alcanzar la temperatura ambiente de 24°C.

Por tanto, tres grupos de 6 lechones cada uno se usaron durante la fase de postdestete: (1) lechones que procedían de cerdas control y alimentadas con una dieta control (0 g de CLA / kg de dieta) (CT-CT), (2) lechones que procedían de cerdas control y alimentadas con una dieta que contenía 10 g de CLA / kg de dieta (CT-CLA), y (3) lechones alimentados con CLA que procedían de cerdas alimentadas con dietas que contenían 10 g de CLA / kg de dieta (CLA-CLA). En el postdestete los lechones recibieron dos dietas diferentes, prestarter (28 a 42 días de edad) y arranque (42 a 63 días de edad).

Todas las dietas de iniciación se suministraron en forma de gránulo y fueron formuladas para suministrar la misma cantidad de aminoácidos esenciales digestibles por MJ NE. Los ingredientes, la composición química y los principales AG de las dietas experimentales de los animales se muestran en la **Tabla 1 y 2**.

7.2.2. Mediciones y toma de muestras

El día 23 después del parto se recogieron muestras de leche. La leche (10 ml) se obtuvo mediante el ordeño de las mamas, tras una inyección intramuscular en el cuello de 3 ml de oxitocina (Ganadil Pituit; Invesa, Madrid). Las muestras se congelaron inmediatamente hasta la realización de los análisis químicos.

Se sacrificó un lechón procedente de cada una de las cerdas para estudiar la composición de AG de la grasa subcutánea, el hígado y la actividad de distintas enzimas en los lechones destetados (28 d). Al final del periodo de arranque (63 d) se sacrificó un lechón por réplica (seleccionado al azar). Los cerdos se sacrificaron mediante inyección intracardíaca de una dosis letal (3 ml) de solución de pentobarbital (Dolethal, Vétoquinol, LURE, Cedex, Francia, 20 g de sodio pentobarbital / mL), y posteriormente se pesaron y se desangraron.

Se recogieron los pesos finales al final del periodo experimental (28 y 63 días). Las muestras de corazón, hígado y de grasa subcutánea se recogieron tras el sacrificio, se introdujeron inmediatamente en nitrógeno líquido para su posterior análisis. Además se

tomaron muestras de grasa subcutánea e hígado que fueron envasadas al vacío con una película permeable, y guardadas en congelación a -20 ° C hasta el análisis de AG.

7.2.3. Análisis químicos

La determinación de la composición de los piensos (por triplicado) se realizó siguiendo la metodología de la AOAC (2005). Los AG de la dieta se extrajeron y se cuantificaron por el procedimiento del one-step descrito por Sukhija y Palmquist (1988) a partir de muestras liofilizadas. Se utilizó el ácido pentadecanoico (C15:0) (Sigma-Aldrich, Madrid, España) como patrón interno. Los ésteres metílicos de AG se analizaron mediante cromatografía de gases utilizando un aparato Hewlett-Packard HP-6890 (Avondale, PA, EE.UU.) equipado con un detector de ionización de llama y una columna capilar HP-Innowax (100 x 0,32 x 0,25 de polietilenglicol) (Kramer *et al.*, 1998).

Los lípidos de la leche, la grasa subcutánea y el hígado se extrajeron con una mezcla de cloroformo / metanol (2:1 v / v) siguiendo el procedimiento descrito por Folch, Lees, y Stanley (1957). Los extractos lípidicos fueron metilados en presencia de metóxido de sodio (Christie, 1982) y se analizaron como se describe para los AG de la dieta.

7.2.4. Análisis enzimáticos

Se obtuvieron homogenizados de la grasa subcutánea y del hígado a partir de las para determinar las actividades de la ME y la G6PD (Álvarez *et al.*, 2000). El contenido de la proteína soluble del hígado y la grasa subcutánea se determinó por el método de Bradford (1976). Todos los ensayos enzimáticos se realizaron a 37 °C. Los reactivos químicos se suministraron por Amersham Biosciences (Upsala, Suecia) y por Sigma-Aldrich (Madrid, España).

Se utilizaron extractos de corazón para determinar la actividad de la enzima [L-3-hidroxiacyl-CoA deshidrogenasa (L3HOAD; CE 1.1.135)]. Se aislaron las mitocondrias a partir de los extractos de corazón siguiendo el procedimiento descrito por Saggerson, 1982. Los pellets mitocondriales se resuspendieron en 0,3 mol de sacarosa que contenía 10 mmol de Tris-HCl pH (7,4 a 0 ° C) y 1 mmol / l EGTA y se sonicaron en frío para obtener un sobrenadante mitocondrial después de centrifugar a 20.000 rpm por 40 min a 4 ° C. La actividad de L3HOAD se midió según el método espectrofotométrico propuesto por Bradshaw y Noyes (1975). Todos los ensayos enzimáticos se realizaron por triplicado. Las unidades de actividad enzimática (UI) se

definieron en todos los casos como mol sustrato que se convierte en producto por minuto a la temperatura de ensayo especificada y expresada por mg de proteína soluble.

7.2.5. Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza a través del Modelo Lineal General (GLM) para evaluar el efecto de los tratamientos experimentales, ya sea en la fase inicio o después del destete. La comparación de medias se realizó mediante el test de Tukey. Los patrones lineales de cambio con el tiempo se han estimado utilizando el procedimiento GLM de SAS, y la prueba t-student para comparar diferencias en la respuesta (la pendiente de la ecuación lineal) al tratamiento experimental. Los datos fueron analizados usando la versión 9.1 de SAS (2002).

7.3. RESULTADOS

La inclusión de CLA en el pienso de los animales experimentales no produjo efectos sobre la actividad de las enzimas lipogénicas (G6PD y ME) y lipolítica (L3HOAD) ($P < 0.05$) a los 28 días de edad (**Tabla 3**). Sin embargo se observó un efecto muy marcado de la inclusión del CLA en las dietas de las cerdas sobre la composición de AG de la grasa subcutánea de los lechones (**Tabla 4**). Los lechones de las cerdas alimentadas con una dieta enriquecida de CLA mostraron una mayor concentración de C12:0, C14:0, C16:0, C18:0 y AGS ($P < 0.05$) y una menor concentración de C16:1 n-7, C18:1 n-9, C18:1 n-7 y de AGMI, y menores relaciones de AGMI/AGS, C16:1 n-7/C16:0 y C18:1 n-9/C18:0 que aquellos lechones que procedían de las madres que recibieron una dieta control ($P < 0.05$).

El porcentaje de grasa y la composición en AG del hígado se muestran en la **Tabla 4**. No se observó efecto de la dieta sobre el porcentaje de grasa hepática. Sin embargo, la dieta enriquecida con CLA tuvo una influencia positiva sobre el C16:0, C18:2 n-6, *c9,t11*-CLA, *t10,c12*-CLA y las proporciones de AGS ($P < 0.05$) y un efecto negativo sobre el C16:1 n-7, C18:1 n-7 y las proporciones de AGM y AGM / AGS y C16:1 n-7/C16:0 ($P < 0.05$), mientras que la concentración del resto de los AG no se modificó por la dieta que incorporaba el CLA.

El efecto de la inclusión de CLA en las dietas de las cerdas y de los lechones destetados sobre la actividad de las enzimas lipogénicas (G6PD y ME) y la enzima lipolítica (L3HOAD) se muestran en la **Tabla 5**. La actividad de ME en la grasa subcutánea fue

menor en los grupos en los que se incluyó el CLA en las dietas de las cerdas y de los lechones o sólo en lechones destetados, que en el grupo que no recibió ningún suplemento de CLA ($P < 0.05$). No hubo efecto del CLA sobre la actividad de la L3HOAD en el corazón y la actividad de la G6PD y la ME en el hígado.

El efecto de la administración de la dieta con CLA sobre la composición de AG de la grasa subcutánea de los lechones a 63 días de edad se muestra en la **Tabla 6**. La administración de la dieta con CLA en los lechones destetados produjo una mayor concentración de *c9,t11*-CLA, *t10,c12*-CLA, C18:2 n-6 y de AGPI ($P < 0.05$) y una concentración más baja en C18:1 n-9 y AGMI y de los relaciones de AGMI/AGS, C16:1 n-7/C16:0 y C18:1 n-9/C18:0 ($P < 0.05$) que en el grupo control.

El efecto de la inclusión de CLA en las dietas de las cerdas y los lechones destetados sobre la concentración de grasa hepática y la composición de AG del hígado a los 63 días de edad se muestra en la **Tabla 6**. Se observó una mayor concentración de grasa del hígado en el grupo CT-CT que en el grupo CT-CLA, y el grupo CLA-CLA mostraba un valor intermedio. La administración de la dieta CLA a los lechones destetados provocó una mayor concentración de C16:0, C18:2 n-6, C18:3 n-3, *c9,t11*-CLA y *t10,c12*-CLA y una menor concentración de C16:1 n-7, C18:1 n-7 y AGMI y los relaciones AGMI/AGS y C16:1 n-7/C16:0 ($P < 0.05$), mientras que el resto de concentración de AG no se vieron afectados por el contenido de CLA.

7.4. TABLAS TRABAJO EXPERIMENTAL 4

Tabla 1. Ingredientes (g/kg de pienso), análisis calculado (%) y composición química (%) de los piensos experimentales.

	Pienso cerdas		Pienso lechones (28 - 42 d)		Pienso lechones (42 - 63 d)	
	S-CT ^a	S-CLA ^b	P-CT ^c	P-CLA ^d	P-CT ^c	P-CLA ^d
Ingredientes (g/kg)						
Cebada	333	333	228	228	300	300
Maíz	120	120	235	235	144	144
Trigo	50	50	100	100	230	230
Harina de soja (44)	180	180	80	80	191	191
Harina de girasol (35)	200	200				
Pulpa de remolacha	50	50				
Melaza	10	10				
Haba de soja extrusionada			100	100	80	80
Leche en polvo dulce			125	125	0	0
Harina de pescado (70)			76	76	0	0
Manteca	28.0	18.0	26.0	16.0	19.0	9.0
CLA ^e	0.0	10.0	0.0	10.0	0.0	10.0
Carbonato cálcico	10.0	10.0	7.6	7.6	7.4	7.4
Fosfato bicálcico	8.0	8.0	6.7	6.7	10.7	10.7
Cloruro sódico	5.0	5.0	1.5	1.5	4.0	4.0
L-lisina (50 g/kg)	1.6	1.6	7.7	7.7	7.3	7.3
DL-metionina (980 g/kg)	0.1	0.1	2.2	2.2	1.4	1.4
L-treonina (999 g/kg)			1.7	1.7	1.5	1.5
Corrector vitamínico-mineral ^f	3.0	3.0	4.0	4.0	4.0	4.0
Análisis calculado (%)						
Energía neta (MJ/kg)	9.0	9.0	10.5	10.5	10.0	10.0
Lisina	1.4	1.4	1.5	1.5	1.3	1.3
Metionina+Cistina	0.7	0.7	0.9	0.9	0.8	0.8
Treonina	0.7	0.7	0.9	0.9	0.8	0.8
Triptofano	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Composición química (%)						
Proteína bruta	20.5	20.5	20.3	19.8	18.3	18.7
Grasa bruta	5.3	4.6	4.7	5.0	4.5	4.4
Ácidos grasos (%)						
C16:0	39.9	44.8	17.9	15.8	22.1	19.8
C16:1 n-7	13.7	5.1	0.9	0.7	1.7	1.3
C18:0	4.0	7.5	6.1	5.3	8.7	7.5
C18:1 n-9	27.3	24.0	30.1	29.0	37.1	34.4
C18:2 n-6	14.1	15.2	40.4	39.4	27.0	27.2
C18:3 n-3	0.7	0.7	3.5	3.5	2.1	2.1
c9,t11-CLA ^g	0.0	1.3	0.0	2.7	0.0	3.3
t10,c12-CLA ^g	0.0	0.9	0.0	2.6	0.0	3.2

^aS-CT= Pienso control de las cerdas, sin añadir CLA; ^bS-CLA= Pienso de las cerdas enriquecido en CLA.

^cP-CT= Pienso control de los lechones, sin añadir CLA; ^dP-CLA= Pienso de los lechones enriquecido en CLA.

^eAceite con ácido linoleico conjugado= 60 % isómeros de CLA (mitad *cis*-9,*trans*-11 y mitad *trans*-10,*cis*-12) suministrado por LodestarTM (Wormerveer, Holanda).

^fCorrector vitamínico-mineral por kg de pienso: Vitamina A: 10,000 IU; Vitamina D₃: 2,000 IU; Vitamina E: 26.7 mg; Vitamina B₁: 1.3 mg; Vitamina B₂: 4.0 mg; Vitamina B₁₂: 0.020 mg; Vitamina B₆: 1.3 mg; Pantotenato de calcio: 13.3 mg; Ácido nicotínico: 20 mg; Biotina: 0.1 mg; Ácido fólico: 0.1 mg; Vitamina K₃: 2 mg; Hierro: 133.3 mg; Cu: 26.7 mg; Co: 0.30 mg; Zn: 133.3 mg; Mn: 76.7 mg; I: 1.3 mg; Se: 0.30 mg; Ethoxyquin: 150 mg.

^gc, *cis*; t, *trans*.

Tabla 2. Composición química (%) de la leche perteneciente a las cerdas alimentadas con un pienso control (S-CT) o un pienso enriquecido en CLA (S-CLA).

	Leche	
	S-CT ^a	S-CLA ^b
Composición química (%)		
Proteína bruta	5.8	6.0
Grasa bruta	5.3	4.6
Ácidos grasos (%)		
C16:0	39.9	44.8
C16:1 n -7	13.7	5.1
C18:0	4.0	7.5
C18:1 n -9	27.3	24.0
C18:2 n -6	14.1	15.2
C18:3 n -3	0.7	0.7
<i>c</i> 9, <i>t</i> 11-CLA ^c	0.0	1.3
<i>t</i> 10, <i>c</i> 12-CLA ^c	0.0	0.9
C20:0	0.0	0.1
C20:1	0.2	0.4
Σ AGS ^d	43.9	52.4
Σ AGMI ^d	41.2	29.5

^aS-CT= Pienso control de las cerdas, sin añadir CLA;

^bS-CLA= Pienso de las cerdas enriquecido en CLA.

^c*c*, *cis*; *t*, *trans*.

^d Σ AGS, Σ AGMI = suma de la concentración de ácidos grasos saturados y monoinsaturados respectivamente.

Tabla 3. Efecto de la incorporación de ácido linoleico conjugado (CLA) en la alimentación de las cerdas sobre la actividad enzimática de algunas enzimas lipogénicas o lipolíticas en lechones a los 28 días de edad (IU mg-1 de proteína soluble).

	S-CT^a	S-CLA^b	SEM^c	P-valor
Grasa G6PD ^d	0.068	0.044	0.011	0.147
Grasa EM ^e	0.014	0.008	0.002	0.153
Hígado G6PD ^d	0.030	0.030	0.005	0.757
Hígado EM ^e	0.002	0.003	0.000	0.617
Músculo L3HOAD ^f	0.030	0.040	0.004	0.666

^aS-CT= Lechones de cerdas alimentadas con pienso control.

^bS-CLA= lechones de cerdas alimentadas con pienso enriquecido con CLA.

^cn= 6

^dG6PD= Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa

^eME= Enzima málico

^fL3HOAD= L3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa.

Tabla 4. Efecto de la incorporación de ácido linoleico conjugado (CLA) en la alimentación de las cerdas sobre el contenido de grasa hepática, la composición de ácidos grasos de la grasa dorsal subcutánea y el hígado (%) de los lechones al destete (28 días de edad).

	S-CT ^a	S-CLA ^b	SEM ^c	P-valor
Grasa dorsal subcutánea				
C16:0	33.03	38.69	1.204	0.008
C16:1 n -9	0.28	0.27	0.016	0.865
C16:1 n -7	8.47	4.82	0.641	0.003
C18:0	4.89	7.18	0.437	0.004
C18:1 n -9	36.66	30.99	1.315	0.013
C18:1 n -7	2.82	1.77	0.163	0.001
C18:2 n -6	11.77	12.93	0.457	0.106
C18:3 n -3	0.20	0.15	0.016	0.073
<i>c</i> 9, <i>t</i> 11-CLA ^d	0.00	0.44	0.065	0.001
<i>t</i> 10, <i>c</i> 12-CLA ^d	0.00	0.12	0.020	0.002
ΣAGS ^e	39.77	48.49	1.584	0.003
ΣAGMI ^e	48.22	37.86	1.698	0.002
ΣAGMI / Σ AGS	1.21	0.78	0.065	0.001
ΣAGPI ^e	11.97	13.08	0.457	0.120
C16:1 n -7/ C16:0	0.26	0.12	0.020	0.001
C18:1 n -9/ C18:0	7.50	4.32	0.584	0.003
Hígado				
C16:0	19.94	21.83	0.441	0.013
C16:1 n -9	0.23	0.18	0.029	0.246
C16:1 n -7	2.38	1.22	0.118	<0.001
C18:0	24.68	24.32	0.563	0.662
C18:1 n -9	11.31	9.96	0.596	0.140
C18:1 n -7	2.53	1.62	0.065	<0.001
C18:2 n -6	15.26	17.95	0.339	<0.001
C18:3 n -3	0.22	0.23	0.041	0.842
C20:3 n -9	0.37	0.43	0.016	0.030
C20:4 n -6	18.58	16.87	0.567	0.059
C20:5 n -3	1.44	1.26	0.388	0.751
C22:6 n -3	1.85	1.86	0.082	0.883
<i>c</i> 9, <i>t</i> 11-CLA ^d	0.00	0.64	0.033	<0.001
<i>t</i> 10, <i>c</i> 12-CLA ^d	0.00	0.10	0.024	0.011
ΣAGS ^e	44.68	46.19	0.261	0.002
ΣAGMI ^e	16.45	12.97	0.690	0.005
ΣAGMI / Σ AGS	0.37	0.28	0.016	0.004
ΣAGPI ^e	37.72	38.61	0.645	0.351
C16:1 n -7/ C16:0	0.12	0.06	0.004	<0.001
C18:1 n -9/ C18:0	0.46	0.41	0.033	0.287
Contenido de grasa	4.36	4.28	0.098	0.590

^aS-CT= Lechones de cerdas alimentadas con pienso control.

^bS-CLA= lechones de cerdas alimentadas con pienso enriquecido con CLA.

^cn= 6.

^d*c*, *cis*; *t*, *trans*. ^eΣAGS, ΣAGMI, ΣAGPI = suma de la concentración de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados respectivamente.

Tabla 5. Efecto de la incorporación de ácido linoleico conjugado (CLA) en la alimentación de las cerdas y de los lechones destetados sobre la actividad enzimática de algunas enzimas lipogénicas o lipolíticas en lechones a los 63 días de edad (IU mg-1 de proteína soluble)

	CT-CT^a	CT-CLA^b	CLA-CLA^c	SEM^d	P-valor
Grasa G6PD ^e	0.139	0.090	0.118	0.022	0.369
Grasa ME ^{f,g}	0.091 ^z	0.035 ^y	0.037 ^y	0.014	0.007
Hígado G6PD ^e	0.045	0.051	0.053	0.005	0.607
Hígado EM ^f	0.003	0.004	0.004	0.000	0.519
Músculo L3HOAD ^h	0.028	0.029	0.042	0.004	0.108

^aCT-CT= Lechones de cerdas alimentados con un pienso control desde los 0 a los 63 días de edad.

^bCT-CLA= Lechones de cerdas alimentados con una dieta enriquecida con CLA desde los 28 a los 63 días de edad.

^cCLA-CLA= Lechones de cerdas alimentados con una dieta enriquecida con CLA desde los 0 a los 63 días de edad.

^eG6PD= Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa.

^fME= Enzima málico.

^gValores con un superíndice diferente son diferentes.

^hL3HOAD= L3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa.

Tabla 6. Efecto de la incorporación de ácido linoleico conjugado (CLA) en la alimentación de las cerdas y de los lechones destetados sobre el contenido de grasa hepática, la composición de ácidos grasos de la grasa dorsal subcutánea y el hígado (%) de los lechones a los 63 días de edad.

	CT-CT ^a	CT-CLA ^b	CLA-CLA ^c	SEM ^d	P-valor
Grasa dorsal subcutánea					
C16:0	24.33	23.22	25.74	0.657	0.161
C16:1 n -9	0.47	0.53	0.58	0.041	0.217
C16:1 n -7	3.64	3.49	2.42	0.331	0.062
C18:0	11.50	11.6	12.30	0.396	0.577
C18:1 n -9 ^e	36.83 ^z	31.83 ^y	31.46 ^y	0.768	0.001
C18:1 n -7	2.04	2.06	2.06	0.057	0.310
C18:2 n -6	15.32 ^y	17.77 ^z	17.50 ^z	0.600	0.047
C18:3 n -3	0.97	1.13	1.01	0.053	0.169
<i>c</i> 9, <i>t</i> 11-CLA ^f	0.07 ^y	1.62 ^z	1.62 ^z	0.114	<0.001
<i>t</i> 10, <i>c</i> 12-CLA ^f	0.02 ^y	1.03 ^z	0.99 ^z	0.061	<0.001
ΣAGS ^g	38.05	37.61	40.26	0.649	0.054
ΣAGMI ^g	44.22 ^z	38.91 ^y	37.49 ^y	0.825	<0.001
ΣAGMI / Σ AGS	1.17 ^z	1.03 ^y	0.93 ^y	0.033	0.003
ΣAGPI ^g	16.32 ^y	18.80 ^z	18.51 ^z	0.653	0.026
C16:1 n -7/ C16:0	0.15 ^z	0.15 ^z	0.09 ^y	0.012	0.010
C18:1 n -9 / C18:0	3.39 ^z	2.94 ^y	2.78 ^y	0.122	0.018
Hígado					
C16:0	14.51 ^y	15.86 ^{zy}	17.44 ^z	0.510	0.010
C16:1 n -9	0.49	0.40	0.38	0.037	0.121
C16:1 n -7	0.87 ^z	0.57 ^y	0.58 ^y	0.029	<0.001
C18:0	26.15	27.05	28.29	0.592	0.120
C18:1 n -9	15.48	14.96	14.87	0.376	0.544
C18:1 n -7	2.51 ^z	1.64 ^y	1.74 ^y	0.127	0.001
C18:2 n -6	13.82 ^y	15.99 ^z	16.24 ^z	0.445	0.008
C18:3 n -3	0.23 ^y	0.35 ^z	0.30 ^z	0.020	0.013
C20:3 n -9	0.00 ^y	0.94 ^y	0.85 ^z	0.049	<0.001
C20:4 n -6	0.00 ^y	0.15 ^y	0.15 ^z	0.012	<0.001
C20:5 n -3	0.38 ^{zy}	0.44 ^z	0.31 ^y	0.024	0.013
C22:6 n -3	17.8 ^y	14.8 ^z	13.3 ^z	0.690	0.004
<i>c</i> 9, <i>t</i> 11-CLA ^f	0.25	0.55	0.60	0.131	0.210
<i>t</i> 10, <i>c</i> 12-CLA ^f	1.29	1.66	1.35	0.118	0.128
ΣAGS ^g	45.97 ^y	47.03 ^{zy}	49.00 ^z	0.816	0.090
ΣAGMI ^g	20.39 ^z	18.19 ^y	17.97 ^y	0.478	0.012
ΣAGMI / Σ AGS	0.44 ^z	0.39 ^y	0.36 ^y	0.012	0.009
ΣAGPI ^g	33.72	33.89	32.13	0.825	0.373
C16:1 n -7/ C16:0	0.06 ^z	0.04 ^y	0.03 ^y	0.004	<0.001
C18:1 n -9 / C18:0	0.59	0.55	0.52	0.024	0.221
Contenido de grasa	4.12 ^z	3.58 ^y	3.81 ^{zy}	0.110	0.026

^aCT-CT= Lechones de cerdas alimentados con un pienso control desde los 0 a los 63 días de edad.

^bCT-CLA= Lechones de cerdas alimentados con una dieta enriquecida con CLA desde los 28 a los 63 días de edad.

^cCLA-CLA= Lechones de cerdas alimentados con una dieta enriquecida con CLA desde los 0 a los 63 días de edad.

^dn= 6.

^eValores con un superíndice diferente son diferentes.

^f*c*, *cis*; *t*, *trans*.

^gΣAGS, ΣAGMI, ΣAGPI = suma de la concentración de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados respectivamente.

8. Discusión General

8. DISCUSIÓN GENERAL

Los efectos positivos del CLA sobre el crecimiento, la conversión del alimento y el aumento del tejido magro en detrimento del graso observados en animales de laboratorio han impulsado durante los últimos años la investigación de su uso potencial para el sector porcino, con el fin de mejorar los índices técnico-económicos además de sopesar el posible valor añadido como alimento funcional (Dugan *et al.*, 2004). De los estudios realizados en cerdos existen discrepancias en cuanto al impacto que produce el CLA sobre los parámetros productivos y de calidad, discrepancias que como sugieren Dugan *et al.* (2004) parten de las diferentes condiciones experimentales de los distintos estudios, tales como la edad del animal, el sexo, la genética, la composición de la dieta y de los isómeros de CLA utilizados. En la presente tesis se han llevado a cabo una serie de pruebas experimentales en las que se valoran los efectos del CLA sobre los parámetros productivos y de calidad, y sus implicaciones, en las distintas fases del proceso productivo (madres, lechones y cebo). Además, se ha analizado el efecto del CLA en dos tipos genéticos comerciales en España.

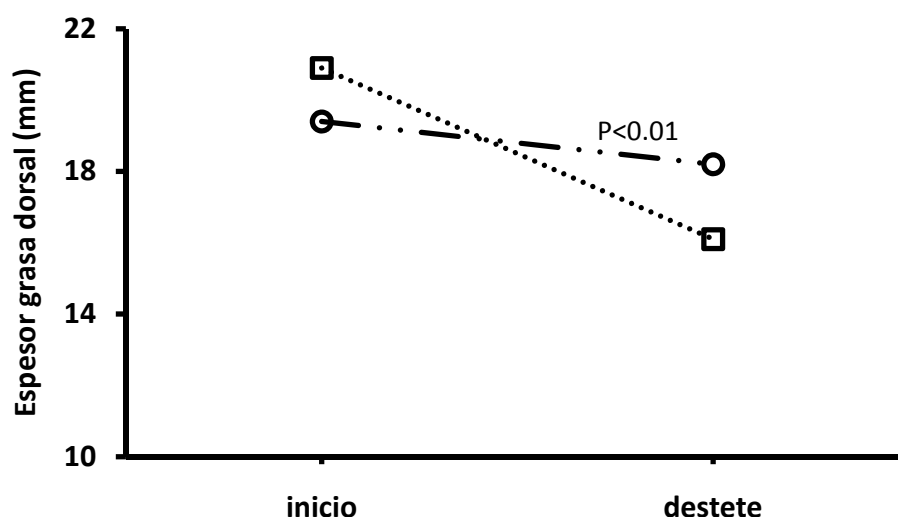
8.1. PARÁMETROS ZOOTÉCNICOS

8.1.1. Madres

Hasta el momento los estudios en cerdas reproductoras se han centrado principalmente en observar los efectos del CLA sobre la eficiencia energética y sobre el efecto modulador de la actividad inmune de la leche y su impacto sobre el desarrollo de la progenie (Bontempo *et al.* 2004; Poulos *et al.* 2004; Corino *et al.* 2009). En dichos estudios aunque el engrasamiento de la madre no fue analizado, la inclusión de hasta un 0.5% de CLA no tuvo efectos sobre el peso de la madre, pero es preciso indicar que en ninguno de los casos se midió el engrasamiento. En nuestro estudio la incorporación de un 1% de CLA durante la última semana de gestación y durante toda la lactación disminuyó la movilización de reservas grasas durante la misma, observándose un efecto significativo sobre el espesor del tejido adiposo subcutáneo al final de la lactación ($P < 0.004$) (**Tabla 2, experimento 3**) (**Figura 1**). Este hallazgo es muy novedoso puesto que ningún trabajo realizado hasta el momento había demostrado el efecto del CLA sobre el espesor de tocino dorsal en cerdas reproductoras. El mantenimiento de la

condición corporal es un objetivo prioritario para la rápida recuperación de las cerdas después de una etapa de alta demanda de nutrientes y energía como es la lactación. Las reservas corporales de las cerdas en el momento del parto tiene una relación directa con la fertilidad posterior (Butler, 2000). Al igual que en los trabajos de Bontempo *et al* (2004), Poulos *et al.* (2004) y Corino *et al.* (2009), en nuestro experimento, la inclusión de CLA en la dieta de la madre no tuvo efectos significativos sobre su rendimiento como reproductora. Es posible que el diseño experimental de este trabajo no permita observar efectos en los parámetros reproductivos, siendo preciso un número mucho más elevado de reproductoras y un periodo experimental más prolongado. No obstante, el efecto sobre la movilización de reservas grasas es suficientemente indicativo del interés del CLA en cerdas reproductoras. Será preciso en el futuro abordar estudios más ambiciosos para tratar de observar posibles efectos en otros parámetros de interés. Por otra parte, el hecho de movilizar menor cantidad de tejido adiposo y sin embargo, no por ello, verse afectado el rendimiento de la progenie puede estar relacionado con la mayor eficiencia de utilización de nutrientes, tal y como propone West *et al.* (1998), aunque también en este caso se hace necesario profundizar en estudios que corroboren esta información.

Figura 1. Espesor de grasa dorsal en las cerdas según el nivel incluido de CLA en la dieta (○ Cerdas que reciben CLA en el pienso; □ Cerdas que reciben pienso control).



El número de lechones destetados por camada y la mortalidad al destete no resultaron afectados por la incorporación de CLA en la dieta de las madres coincidiendo con lo observado en otros experimentos (Poulos *et al.*, 2004; Bontempo *et al.*, 2004; Corino *et al.*, 2009).

8.1.2. Lechones destetados

La inclusión de CLA en la dieta de las cerdas o en la dieta de los lechones destetados no afectó de manera significativa a las principales características productivas de los lechones destetados (ganancia de peso, consumo y eficiencia alimenticia desde el destete (28 días) y a 63 días de vida (**Tabla 5, experimento 3**). Nuestros resultados junto con los obtenidos por Ostrowska *et al.* (1999) y Corl *et al.* (2008) demuestran que la inclusión de CLA en dietas para lechones no parece afectar al rendimiento productivo de los mismos independientemente de la duración del tratamiento. El experimento de Ostrowska *et al.* (1999) tuvo una duración de 56 días mientras que el trabajo de Corl *et al.* (2008) solo se prolongó durante 16-17 días. Tampoco se han observados efectos productivos relacionados con la concentración de CLA en el pienso de lechones destetados. Sin embargo, en los experimentos en los que el CLA se proporcionó en las dietas durante la gestación y la lactación, los resultados son menos claros. Mientras Bontempo *et al.* (2004) coinciden con los resultados obtenidos en el presente trabajo al no observar ningún efecto sobre el crecimiento de los lechones después del destete, Corino *et al.* (2009) describieron un mayor peso al destete de los lechones de cerdas alimentadas con una dieta enriquecida en CLA, pero 13 días después del destete no se observó ninguna diferencia en el peso de los lechones. Por otra parte, Bee (2000b) y Patterson *et al.* (2008) encontraron que durante las primeras semanas después del destete (3 en el caso de Patterson *et al.* (2008) y 5 en el caso de Bee (2000b)) los cerdos nacidos y criados por cerdas alimentadas con dietas enriquecidas con CLA consumían mayor cantidad de alimento que los cerdos criados por las cerdas alimentadas con la dieta control. El mecanismo subyacente de estas diferencias en la respuesta no es claro. Sin embargo, es interesante observar que las diferencias sólo se observaron en los experimentos cuyo nivel de suplementación de CLA en las dietas fue alto (2%) (Bee, 2000b; Patterson *et al.* 2008).

8.1.3. Cerdos en fase de cebo

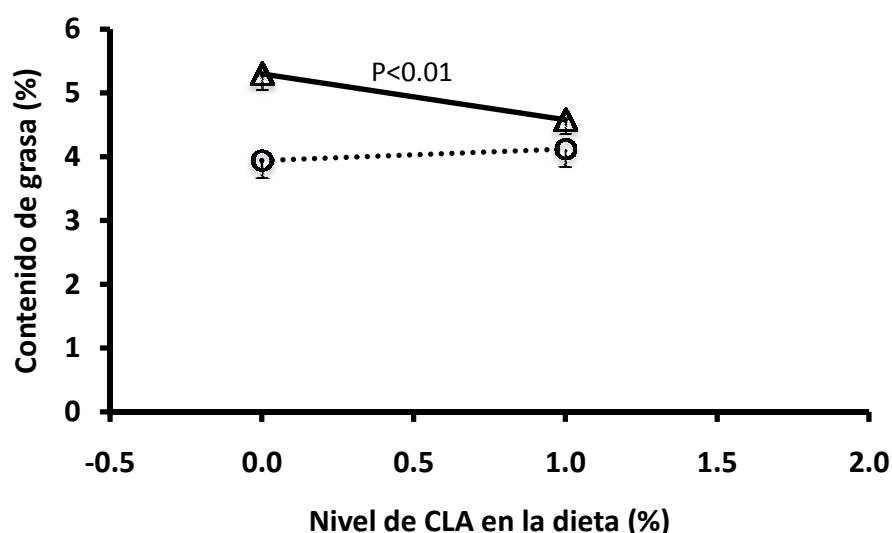
En los animales de genotipos magros (Large white x (Large White x Landrace) no se observó efecto significativo del CLA sobre el peso y rendimiento de la canal. De forma similar, los trabajos realizados por Eggert *et al.* (2001), Ramsay *et al.* (2001), Wiegand *et al.* (2001) tampoco observaron diferencias significativas en estas medidas. Sin embargo, la dieta con 2% de CLA dio lugar a un aumento el peso de lomo ($P < 0.01$) y el peso combinado de jamones + paletas + lomos ($P < 0.02$) (**Tabla 2, experimento 1**). No se observaron efectos de la incorporación de CLA sobre la conductividad eléctrica de los jamones. La conductividad eléctrica se utiliza con frecuencia para estimar la desnaturalización de las proteínas y la retención de agua, lo que sugiere que un alto nivel de suplementación con CLA puede producir un jamón con mejores propiedades tecnológicas. Por otra parte la conductividad eléctrica también puede estar asociada negativamente con el contenido de GIM. Hasta el momento no se han desarrollado estudios para poner de manifiesto el efecto del CLA sobre los parámetros de calidad del jamón.

En nuestro experimento no se han observado efectos de CLA sobre la ganancia de peso, consumo de pienso o conversión del alimento. Asimismo, tampoco se han observado efectos en las características de la canal, aunque sí se observaron algunas tendencias de posible interés potencial, tales como el peso combinado de los jamones, paletas y lomos ($P=0.10$). En cuanto a las diferencias entre machos y hembras, observamos que el peso de las paletas fue mayor en los machos que en las hembras ($P=0.03$), mientras que el peso de tocino tendía a ser mayor en las hembra que en los machos ($P=0.05$). La interacción dieta suplementada con CLA x sexo fue significativa para las características de la canal estudiadas ($P>0.05$). El estudio de Serrano *et al.* (2008) realizado también con cerdos ibéricos muestra resultados productivos en consonancia con los obtenidos en nuestro estudio.

8.2. COMPOSICIÓN DEL CALOSTRO Y DE LA LECHE MATERNA

En el experimento 3 realizado con cerdas alimentadas con 1% CLA durante la última semana de gestación y toda la lactación, no hubo efecto del tratamiento sobre el contenido en grasa del calostro (**Tabla 3, experimento 3**) (**Figura 2**). Los resultados obtenidos están de acuerdo con los aportados por Bontempo *et al.* (2004), quienes no encontraron ningún efecto de la administración de CLA en la dieta sobre la grasa del calostro cuando se administraba durante un período de tiempo corto (8 días). Sin embargo, en nuestro experimento la concentración de grasa de la leche fue un 14% más bajo en las cerdas alimentadas con la dieta que incluía CLA respecto a las reproductoras que recibieron una dieta control ($P < 0.01$) (**Tabla 4, experimento 3**) (**Figura 2**). Estos datos están en consonancia con la menor movilización de la grasa dorsal observada en las cerdas alimentadas con CLA a lo largo del periodo de lactación (**Tabla 2, experimento 3**).

Figura 2. Relación de grasa en el calostro (○) y la leche (Δ) con el nivel de CLA incluido en la dieta de las cerdas (experimento 3).



El efecto de la suplementación de CLA en vacas lecheras sobre el contenido de grasa láctea y su composición está bien documentado (Bernal-Santos *et al.*, 2003; de Veth *et al.*, 2004) el CLA afecta notablemente el metabolismo lipídico y reduce la concentración de grasa (Chouinard *et al.*, 1999). Por otro lado, el limitado número de experimentos con cerdas en lactación parece indicar una respuesta similar (Harrell *et al.*,

2000; Poulos *et al.*, 2004). Poulos *et al.* (2004) encontraron que un 0,5% de CLA en la dieta a partir del día 40 de gestación hasta el destete, producía una reducción de la concentración de la grasa de la leche de un 17%. Según lo sugerido por Bontempo *et al.* (2004), la falta de efecto de CLA sobre el contenido total de la grasa del calostro podría explicarse hasta el momento por el corto período de administración, aunque también puede deberse a una respuesta diferente de la leche y el calostro a dietas con CLA.

En el experimento 3 observamos un marcado efecto de la adición de CLA en la composición de AG del calostro (**Tabla 3**) (**Figura 3**) y de la leche (**Tabla 4**) (**Figura 4**), con un aumento del total de AGS, una disminución de AGMI y ningún efecto sobre el total de AGPI. Las proporciones de C16:1n-7/C16:0 y C18:1n-9/C18:0 fueron menores en el grupo CLA comparadas con el grupo control (**Tablas 4 y 5**) lo que coincide con experimentos previos (Bee, 2000a; Bontempo *et al.*, 2004). Como esperábamos, el número de AG modificados por la inclusión de CLA en la dieta y la magnitud de la alteración de la leche fue mayor que para los lípidos del calostro, ya que las cerdas en lactación comenzaron a recibir la dieta enriquecida en CLA sólo 7 días antes del parto.

Figura 3. Concentración (%) de los AGS (▲), AGMI (●) y AGPI (■) en el calostro, según el nivel de CLA incluido en la dieta (%) (experimento 3).

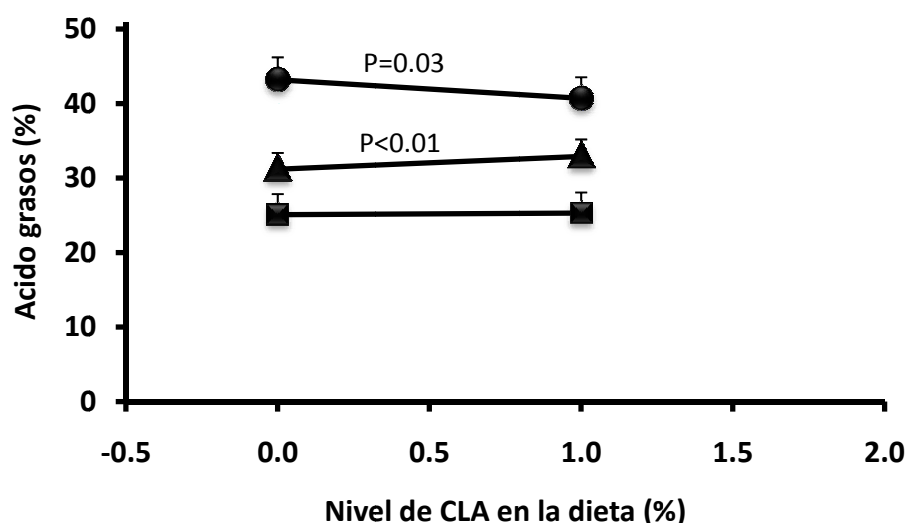
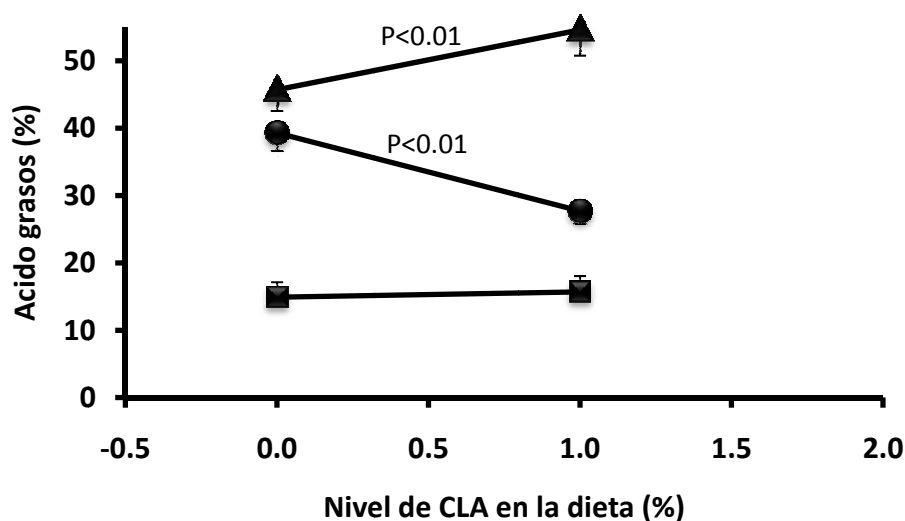


Figura 4. Concentración (%) de los AGS (▲), AGMI (●) y AGPI (■) en la leche, según el nivel de CLA incluido en la dieta (%) (experimento 3).



8.3. MODIFICACIÓN DEL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS

En los animales monogástricos, cualquier modificación del perfil de AG de la dieta suministrada conlleva una modificación del perfil de AG de su grasa corporal o de la grasa de sus productos o secreciones. La composición de los AG de la carne se ve influida por la especie, la raza y el sexo si bien existen también diferencias entre líneas y entre individuos dentro de la misma raza.

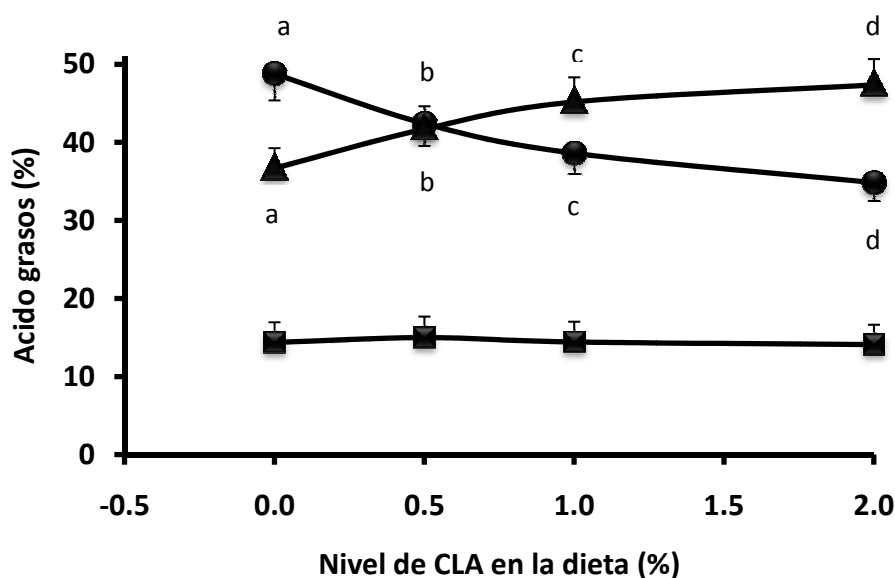
Se ha podido demostrar experimentalmente que el CLA inhibe la actividad de la enzima delta 9 desaturasa (Lee *et al.*, 1998), principal responsable de la insaturación de los AG producidos endógenamente, que transforma el C18:0 en C18:1. Prácticamente toda la información disponible en ganado porcino indica que el CLA produce una marcada saturación de la grasa (Ramsay *et al.*, 2001; Thiel-Copper *et al.*, 2001; O'Quinn *et al.*, 2000; Gatlin *et al.*, 2002; Eggert *et al.*, 2001; Bee, 2001; Joo *et al.*, 2002; Wiegand *et al.*, 2002). Esto sucede en cada uno de los tejidos de los diferentes experimentos (grasa, músculo, hígado, calostro y leche).

8.3.1. Tejido subcutáneo

La inclusión de CLA en piensos para animales de genotipos magros durante la fase de cebo produjo una modificación de la composición de AG en el tejido adiposo subcutáneo

(Tabla 3, experimento 1) (Figura 5). El aumento de la concentración de CLA en la alimentación tuvo una influencia positiva ($P < 0.05$) sobre el contenido de AGS, AGPI y los isómeros $c9,t11$ -CLA, $t10,c12$ -CLA y un efecto negativo sobre el la proporción de AGMI, mientras que el C18:2n-6 y no se vio afectado por el contenido de CLA. La acumulación del $c9,t11$ -CLA en el tejido subcutáneo fue mayor que la de $t10,c12$ -CLA, lo que coincide con los datos proporcionados por Kramer *et al.* (1998) quienes sugirieron que el isómero $t10, c12$ -CLA se incorpora de una forma menos eficiente.

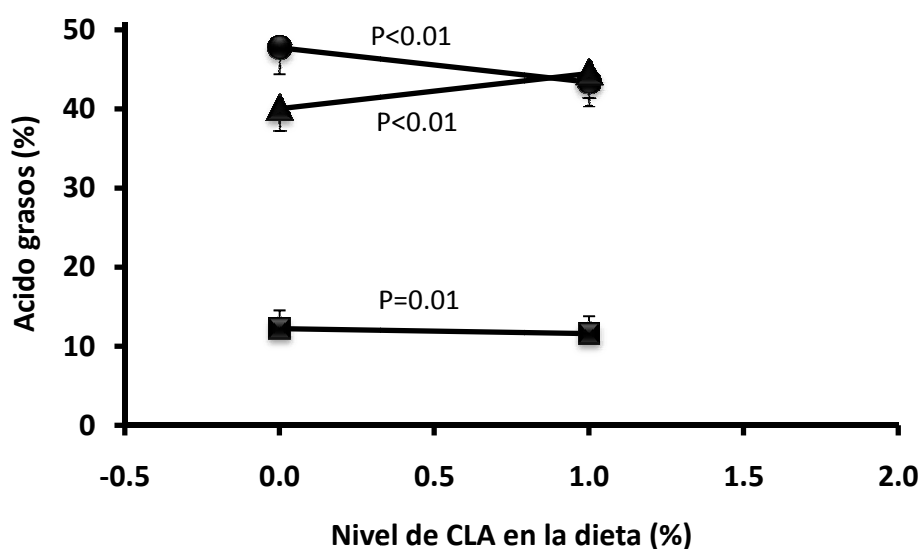
Figura 5. Concentración (%) de los los AGS (▲), AGMI (●) y AGPI (■) en la grasa subcutánea de cerdos blancos, según el nivel de CLA incluido en la dieta (%) (experimento 1).



En los cerdos ibéricos (grasos) del experimento 2 también se produjo una modificación del perfil de AG de la grasa subcutánea en el mismo sentido (Tabla 3, experimento 2) ya que se observó un incremento de los AGS y una disminución de los AGMI (Figura 6). En el presente trabajo los AGS de la grasa subcutánea aumentaron de un 40,0% a un 44,5% durante los 42 días de experimento, pero Larsen *et al.* (2009) encontraron que los AGS aumentaron del 38,5% al 46% durante 56 días de experimento, lo que indica que en cerdos pesados, 42 días de suplementación con CLA es suficiente para modificar los AGS de la grasa dorsal. Además a diferencia de los cerdos blancos, el CLA produjo una reducción en los niveles de AGPI en los cerdos alimentados con CLA (11.61 vs 12.23) ($P < 0.01$). Esta reducción en la concentración de AGPI en la grasa subcutánea es un tema de interés potencial, ya que existe una relación negativa entre el contenido de

AGPI y consistencia grasa. La acumulación excesiva AGPI en grasa conduce a un mayor tiempo de procesamiento de los productos curados, debido a una baja consistencia grasa y por lo que, la migración de agua se ve alterada (López-Bote, 1998) lo que es de gran importancia en la obtención de productos cárnicos de calidad.

Figura 6. Concentración (%) de los AGS (▲), AGMI (●) y AGPI (■) en la grasa subcutánea de cerdos ibéricos x Duroc del experimento 2 según el nivel de CLA incluido en la dieta (experimento 2).

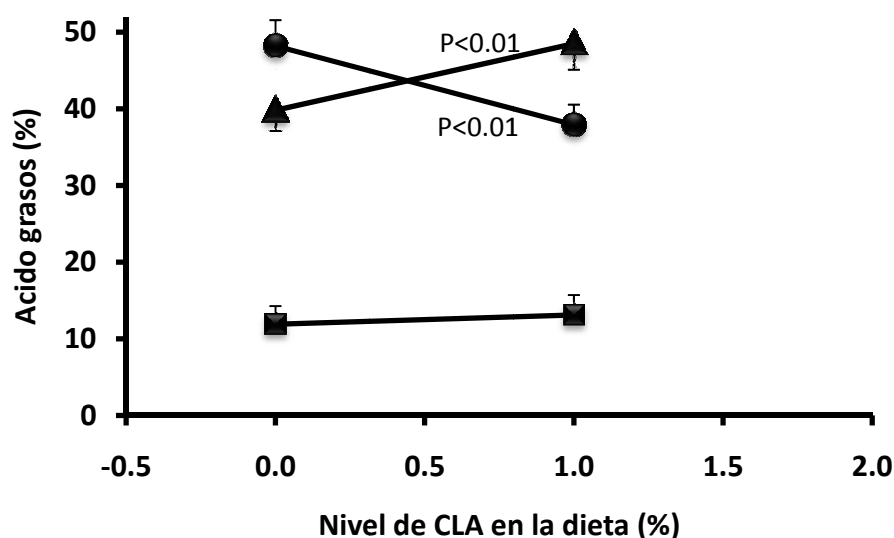


El índice Δ -9 desaturasa calculado mediante el cociente de AGMI/AGS, C18:1n-9/C18:0 y C16:1n-7/C16:0, se redujo con la administración de un 1% de CLA, lo que coincide con investigaciones previas en que las que se midió la actividad de la enzima SCD en el tejido adiposo subcutáneo porcino (Smith *et al.*, 2002) o se estimó de modo indirecto (Eggert *et al.*, 2001; Martín *et al.*, 2007). De acuerdo con Park *et al.* (2000), el isómero *t*10,*c*12-CLA tiene un efecto inhibitorio sobre la actividad Δ -9 desaturasa en comparación con otros isómeros de CLA, mientras que el isómero *c*9,*t*11-CLA no parece tener efecto sobre la desaturación de los AG.

En el caso de los lechones lactantes también se ha observado un efecto de la inclusión de CLA en el pienso sobre la composición de AG de la grasa subcutánea (**Tabla 4, experimento 4**) (**Figura 7**) lo que era de esperar teniendo en cuenta el marcado efecto del CLA en la composición de los AG de la leche de las cerdas. Esto puede ser debido a que los lechones recién nacidos tienen un contenido muy bajo en grasa (Pettigrew, 1981) y la capacidad para la síntesis y movilización de grasa es muy reducida

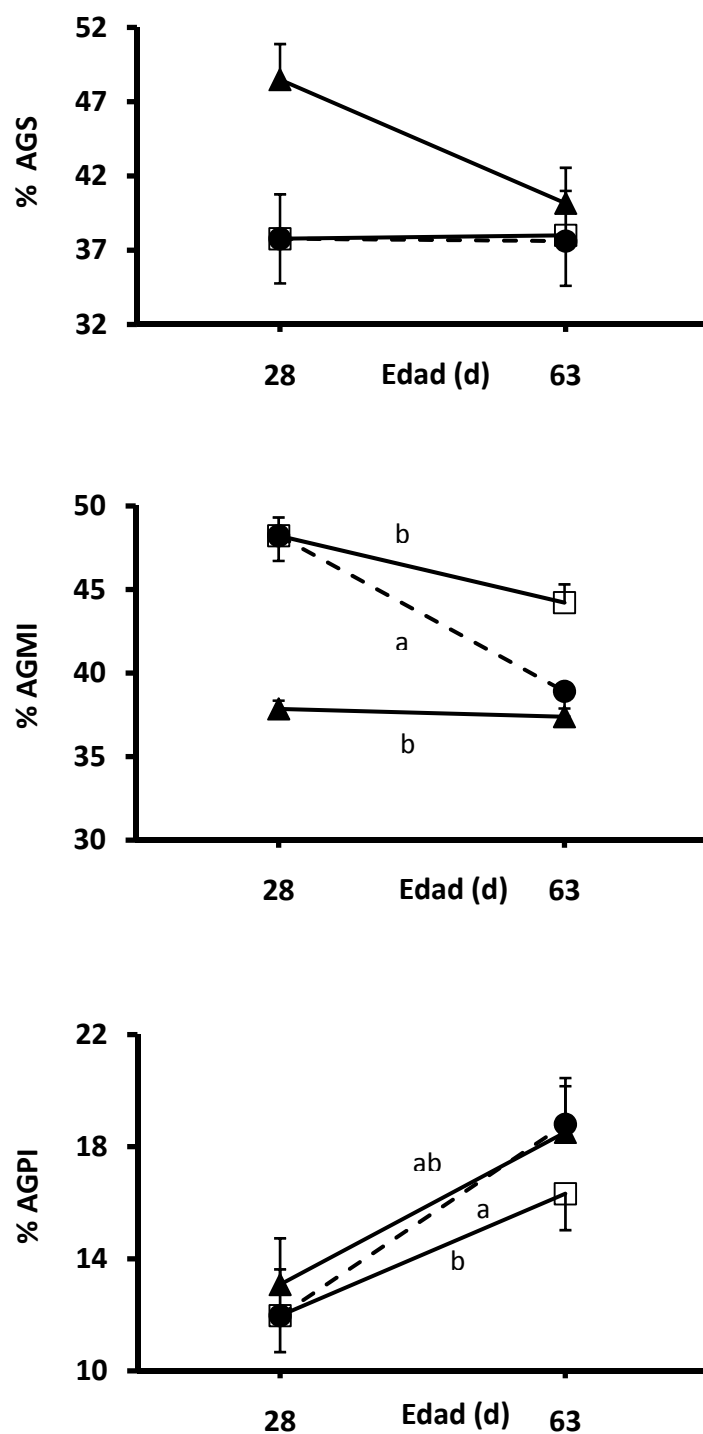
(Leskanich y Noble, 1999; Otten *et al.* 1993). Por lo tanto, estos datos sugieren que se produce una acumulación directa de AG sin apenas modificación. Sin embargo, es preciso señalar que la concentración del isómero *c9,t11*-CLA es un 67% menor en la grasa subcutánea que en la leche (0,44 vs 1,3%) y el isómero *t10,c12*-CLA es un 86% menor (0,9 vs 0,12%), y sugiere una menor tasa de absorción y por tanto una menor disponibilidad de los isómeros de CLA en comparación con la leche (Bee, 2000a). También es interesante observar la diferente respuesta de los isómeros de CLA al acumularse en los diferentes tejidos del cerdo. La concentración de ambos isómeros fue similar en las dietas de las cerdas, pero en la leche había una mayor acumulación de *c9,t11*-CLA sobre *t10,c12*-CLA (1,5 veces mayor concentración), mientras que en la grasa subcutánea de los lechones la concentración del isómero *c9,t11* fue 3.7 veces mayor que la del isómero *t10,c12* (Tabla 4, experimento 4).

Figura 7. Concentración (%) de los AGS (▲), AGMI (●) y AGPI (■) en la grasa subcutánea de los lechones destetados (28 d de vida) según el nivel de CLA incluido en la dieta (experimento 4).



Los lechones que recibían una dieta enriquecida de CLA después del destete alcanzaron una concentración similar en el tejido subcutáneo de AGS, AGMI, C18:2n-6 y AGPI a los 63 d de vida comparados con los lechones nacidos de las cerdas alimentados con una dieta enriquecida CLA, y que cuando se destetan (28 d) reciben una dieta suplementada con CLA (Figura 8).

Figura 8. Efecto de la administración de una dieta enriquecida con CLA durante la lactación y el postdestete (CLA-CLA, ▲), o solo en el periodo de postdestete (CT-CLA, ●, línea discontinua), sobre la concentración de los ácidos grasos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI) y poliinsaturados (AGPI) en lechones lactantes (28 d) y lechones destetados (63 d) en la grasa subcutánea (□, grupo control, CT-CT) (experimento 4).



Una respuesta similar se observó para la acumulación de isómeros del CLA en el período de arranque (63 d de edad). Como era de esperar en los lechones procedentes de madres que habían recibido una dieta control durante la última semana de la gestación y toda la lactación, no se detectaron concentraciones de *c9,t11*-CLA y *t10,c12*-CLA en el destete, pero los lechones que recibían una dieta enriquecida en CLA durante 35 días después del destete, la concentración de los isómeros de CLA fue muy similar a la observada en los lechones alimentados con una dieta CLA durante todo el período experimental (63 d). Investigaciones previas en cerdos en crecimiento han mostrado una respuesta cuantitativa de la concentración de CLA en la dieta sobre la acumulación de los isómeros de CLA en la grasa subcutánea (Martín *et al.*, 2007), pero no hay información concluyente sobre el efecto del tiempo de administración de CLA en la acumulación de CLA en los tejidos del cerdo. En un experimento reciente (Martín *et al.*, 2007) se observó una respuesta asintótica en la acumulación de isómeros de CLA en la grasa subcutánea de cerdos en crecimiento, con una meseta en la respuesta después de un período inicial (2-3 semanas) de rápido crecimiento.

8.3.2. Tejido muscular

La inclusión de CLA en piensos para animales de genotipos magros durante la fase de cebo produjo una modificación de la composición de AG en el músculo *L. dorsi* (**Tabla 4, experimento 1**). El aumento de la concentración de CLA en el pienso incrementó ($P < 0.05$) la concentración de los AGS y los isómeros *c9,t11*-CLA y *t10,c12*-CLA y disminuyó proporción de AGMI y los AGPI no se vieron afectados por el contenido de CLA.

Es interesante señalar que el aumento de la concentración de C16:0 fue mayor en la GIM que en la grasa subcutánea, y lo contrario ocurre para el C18:0, lo que indica una regulación diferente por el CLA en los distintos tejidos. El efecto de la disminución en la concentración de C18:1n-9 por el CLA fue menor en la GIM que en la grasa subcutánea, lo que sugiere que el CLA es menos efectivo en la regulación del delta-9-desaturasa en el tejido muscular. Estos resultados están de acuerdo con los trabajos de Bee (2001) y Eggert *et al.* (2001). Sin embargo, otros autores (Ramsay *et al.*, 2001; Demaree *et al.*, 2002), observaron un aumento de C18:0 y una disminución de C18:1n-9 y C18:3n-3 en la GIM del músculo *L. dorsi* al aumentar la concentración de CLA en la

dieta. Sin embargo la dieta con CLA no tuvo ningún efecto sobre la proporción de C16:0.

En la **Tabla 4 (experimento 2)** de los cerdos ibéricos (grasos) también se produjo una modificación del perfil de AG del músculo *L. dorsi* en el mismo sentido ya que se observó un incremento de los AGS y una disminución de los AGMI y no produjo ningún efecto sobre el C18:2n-6 y la concentración de AGPI. Bee (2001), en cerdos sacrificados a 105,2 kg de peso vivo, observaron un aumento de C16:0 y AGS y una reducción de C18:1n-9 y AGMI con la dieta de CLA, mientras que no se observó ningún efecto en la concentración del C18:2 n-6. Es interesante observar que el aumento de la proporción de C16:0 en la GIM es similar o un poco menor que en la grasa subcutánea dorsal. La reducción de la proporción de C18:1n-9, AGMI y el índice Δ -9 desaturasa fue de menor magnitud en la GIM que en la grasa dorsal subcutánea, lo que sugiere un menor efecto regulador de Δ -9 desaturasa en el tejido muscular. En el experimento 3, este resultado se debió probablemente a la menor concentración del isómero t10, c12-CLA en la GIM que en la grasa subcutánea.

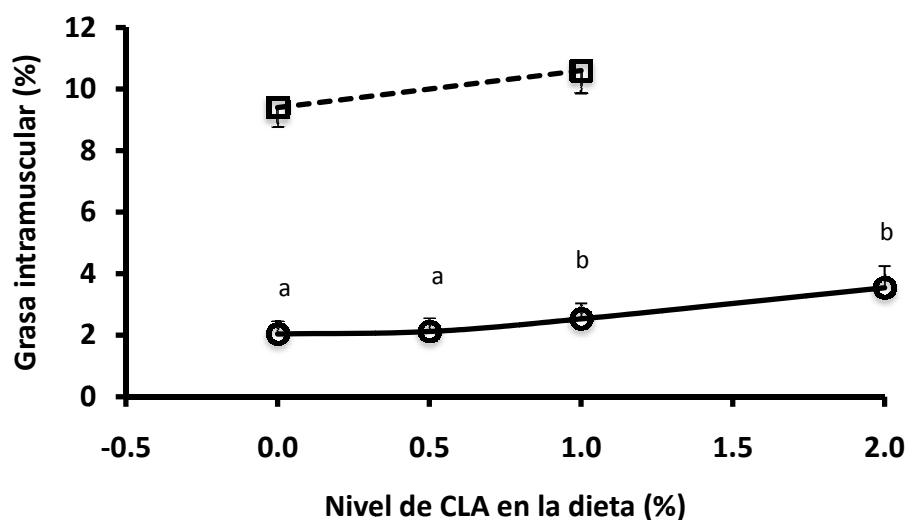
En este experimento 3 las relaciones encontradas entre el porcentaje de GIM y las proporciones de C14:0, C16:0 y C18:2n-6 en el músculo son de interés. Trabajos previos han mostrado una relación entre los AGS y el contenido de GIM (Bee, 2001; Eggert *et al.*, 2001; Ramsay *et al.*, 2001), lo que sugiere un mecanismo indirecto de la dieta de sobre el contenido de GIM, pero es preciso confirmar este efecto en futuros experimentos. El sexo no tuvo efecto ($P > 0.05$) sobre el perfil de AG de la GIM (**Tabla 4, experimento 2**). Sin embargo, los machos tendieron ($P < 0.10$) a tener mayores proporciones de C18:0, AGS y c9,t11-CLA y menores proporciones de AGMI, AGMI/AGS y C18:1n-9/C18:0 que las hembras. La interacción incorporación de CLA en el pienso x el sexo no tuvo ningún efecto sobre el perfil de AG

8.4. CONTENIDO DE GRASA INTRAMUSCULAR

Un aspecto de interés del CLA es su potencial efecto sobre la calidad de la carne, destacando especialmente el contenido en GIM. Aunque algunos experimentos previos han puesto en evidencia un efecto del CLA en el pienso en el contenido de GIM (Dugan *et al.*, 1999; Wiegand *et al.*, 2001; Wiegand *et al.*, 2002; Joo *et al.*, 2002). Sin embargo, en otros trabajos no se ha evidenciado ningún efecto (Tischendorf *et al.*, 2002; D'Souza y Mullan, 2002). Teniendo en cuenta que el CLA tiene un efecto lipolítico en la grasa subcutánea, éste es sin duda un aspecto de interés, porque sugiere que el CLA modifica el reparto de la grasa en el organismo animal (Park, *et al.* 1995, Choi *et al.*, 2004), reduciéndolo en los lugares de menor interés comercial y aumentándolo en los lugares donde tiene un efecto de mayor interés.

En el trabajo realizado con cerdos blancos en cebo (**Tabla 2, experimento 1**) el contenido de GIM fue afectado por la inclusión de CLA en el pienso ($P < 0.001$) (**Figura 9**). Aunque la concentración de un 0,5% de CLA no produjo efecto alguno, la inclusión de 1% y 2% de CLA en la dieta resultó en un marcado aumento en el contenido de GIM (del 16% y 19%, respectivamente). Sin embargo, en el experimento 2 (cerdo ibérico x Duroc) la inclusión de un 1% de CLA en la dieta no afectó a la concentración de GIM (**Tabla 2, experimento 2**) (**Figura 9**). Este resultado es aparentemente contradictorio con lo expuesto anteriormente en cerdos pertenecientes a líneas genéticas magras, lo que sugiere que la eficacia de una dieta con un 1% de CLA sobre la concentración de GIM es menor en los cerdos grasos sacrificados con mayor peso, que en los genotipos magros sacrificados en la proximidad de los 100 kg de peso vivo (Eggert *et al.*, 2001). Esta aparente contradicción entre los resultados de los dos experimentos se corrobora por la información disponible en la bibliografía. Así es interesante señalar que Gatlin *et al.* (2002), Dugan *et al.* (1997), Joo *et al.* (2002), Wiegand *et al.* (2002) hallaron una mayor puntuación de marmoreado en cerdos que recibieron dietas enriquecidas en CLA y se sacrificaron aproximadamente con 100 kg de peso vivo. Sin embargo, Corino *et al.* (2008), Lauridsen *et al.* (2005), Lo Fiego *et al.* (2005), Migdal *et al.* (2004) no observaron ningún efecto del CLA sobre la concentración de GIM en cerdos sacrificados con un mayor peso (> 125 kg).

Figura 9. Relación de grasa intramuscular con el nivel de CLA incluido en la dieta en cerdos blancos (○) e ibéricos (□) (experimentos 1 y 2).



8.5. ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

En estudios previos se ha observado que los isómeros del CLA muestran un efecto limitante en la acumulación de grasa en los organismos animales. La acumulación de grasa está determinada por un equilibrio entre la síntesis (lipogénesis) y la movilización (lipólisis, β -oxidación de los AG). Sin embargo, no está del todo claro en qué medida este efecto se debe a una disminución de la actividad de las enzimas que participan en la lipogénesis o un aumento en la β -oxidación de AG.

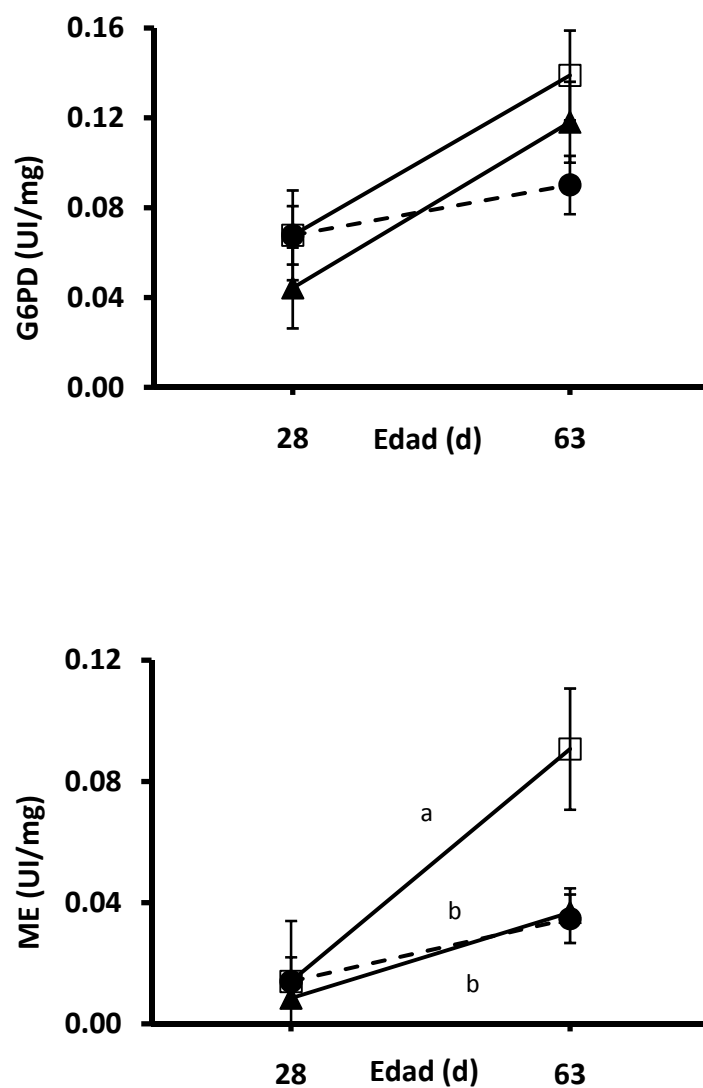
Las enzimas G6PD y ME son claves en los procesos de lipogénesis ya que son las principales encargadas de suministrar el poder reductor (NADPH) necesario para el proceso de biosíntesis de AG en cerdos (Mourot *et al.*, 1995).

En el experimento de los lechones la actividad de las enzimas lipogénicas aumentó tanto en los tejidos adiposo y hepático con la edad (**Tablas 3 y 5, experimento 4**) ($P < 0.05$) siendo mayor la actividad en el tejido adiposo que en el hepático. En el cerdo la lipogénesis tiene lugar principalmente en el tejido adiposo (José *et al.*, 2008) y las actividades de la G6PD y la EM aumentan a medida que el animal crece, alcanzando un máximo de actividad en animales cercanos a los 60 kg de peso, disminuyendo a partir de entonces (Mourot *et al.*, 1995).

En el presente estudio la actividad de G6PD en ambos tejidos fue mayor que la de la ME, lo cual concuerda con lo observado por Mourot *et al.* (1995) en los animales que pesaban alrededor de 20 kg. Estudios previos en cerdos sugieren que la influencia de CLA sobre el metabolismo lipídico parece depender de la fase de crecimiento del cerdo y del genotipo (Ramsay *et al.*, 2001). De esta forma Bee (2001) no observó un efecto de la dieta de CLA sobre la actividad de la EM y las enzimas implicadas en la síntesis de AG en el tejido adiposo de cerdos en la fase de acabado, pero el mismo autor, Bee (2000b) encontró un efecto positivo del CLA sobre la actividad de la ME y la G6PD en el tejido adiposo de los lechones. Del mismo modo Corino *et al.* (2003) con dietas que contenían 0,25 y 0,50% de CLA, no observaron ningún efecto de la dieta CLA en la actividad de G6PD y ME en el tejido adiposo de los cerdos pesados. Sin embargo recientemente, Corl *et al.* (2008) observaron que el CLA reducía la expresión de genes lipogénicos en lechones recién nacidos sin afectar a la β -oxidación de palmitato en el hígado y el músculo. Según Daza *et al.* (2007) los cambios en la actividad de estas enzimas es más marcado en los animales jóvenes o cuando reciben diferentes niveles de energía en la dieta. En nuestro trabajo no encontramos ningún efecto del CLA sobre las enzimas lipogénicas (**Tabla 3, experimento 4**) (**Figura 10**) lo que parece indicar que el aumento de la concentración de AGS y la disminución de la concentración de AGMI observado en cerdos alimentados con CLA se debe más al efecto regulador del CLA sobre la actividad de la Δ -9 desaturasa que sobre la lipogénesis. Esto está de acuerdo con Bretillon *et al.* (1999) quienes describieron un efecto inhibitorio del CLA tanto en la actividad y como en la expresión de la Δ 9-desaturasa hepática.

En cuanto a los posibles efectos del CLA sobre la lipólisis en el presente estudio, la β -oxidación estudiada en el corazón no fue modificada por la dieta suplementada con CLA, pero observamos una tendencia a una mayor actividad de la L3HOAD en cerdos alimentados con CLA durante las dos fases del experimento (**Tabla 5, experimento 4**). Esta respuesta es similar a la descrita en otros trabajos que observaron un efecto positivo del CLA sobre la β -oxidación de AG (Pariza *et al.*, 2001; Wahle *et al.*, 2004).

Figura 10. Efecto de la administración de una dieta enriquecida con CLA durante la lactación y el postdestete (CLA-CLA, ▲), o solo en el periodo de postdestete (CT-CLA, ●, línea discontinua), sobre la actividad enzimática del tejido subcutáneo en lechones lactantes (28 d) y lechones destetados (63 d) (□, grupo control, CT-CT) (experimento 4).



8.6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bee, G. 2000a. Dietary conjugated linoleic acids alter adipose tissue and milk lipids of pregnant and lactating sows. *J. Nutr.* 130, 2292-2298.
- Bee, G. 2000b. Dietary conjugated linoleic acid consumption during pregnancy and lactation influences growth and tissue composition in weaned pigs. *J. Nutr.* 130, 2981-2989.
- Bee, G. 2001. Dietary conjugated linoleic acids affect tissue lipid composition but not de novo lipogenesis in finishing pigs. *Anim. Res.* 50, 383-399.
- Bernal-Santos, G., Perfield, J.W., Barbano, D.M., Bauman, D.E., Overton, T.R., 2003. Production responses of dairy cows to dietary supplementation with conjugated linoleic acid (CLA) during the transition period and early lactation. *J. Dairy Sci.* 86, 3218-3228.
- Bontempo, V., Sciannimanico, D., Pastorelli, G., Rossi, R., Rosi, F., Corino, C., 2004. Dietary conjugated linoleic acid positively affects immunologic variables in lactating sows and piglets. *J. Nutr.* 134, 817-824.
- Bretillon, L., Chardigny, J.M., Gregoire, S., Berdeaux, O., Sebedio, J.L., 1999. Effects of conjugated linoleic acid isomers on the hepatic microsomal desaturation activities in vitro. *Lipids* 34, 965-969.
- Butler, W.R., 2000. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 60, 449-457.
- Choi, J.S., Jung, M.H., Park, H.S., Song, J. 2004. Effect of conjugated linoleic acid isomers on insulin resistance and mRNA levels of genes regulating energy metabolism in high-fat-fed rats. *Nutr.* 20, 1008-1017.
- Chouinard, P.Y., Corneau, L., Barbano, D.M., Metzger, L.E., Bauman, D.E., 1999. Conjugated linoleic acids alter milk fatty acid composition and inhibit milk fat secretion in dairy cows. *J. Nutr.* 129, 1579-1584.

- Corino, C., Magni, S., Pastorelli, G., Rossi, R., Mourot, J. 2003. Effect of conjugated linoleic acid on meat quality, lipid metabolism, and sensory characteristics of dry-cured hams from heavy pigs. *J. Anim. Sci.* 81, 2219-2229.
- Corino, C., Musella, M., Pastorelli, G., Rossi, R., Paolone, K., Costanza, L., Manchisi, A., Maiorano, G. 2008. Influences of dietary conjugated linoleic acid (CLA) and total lysine content on growth, carcass characteristics and meat quality of heavy pigs. *Meat Sci.* 79, 307-316.
- Corino, C., Pastorelli, G., Rosi, F., Bontempo, V., Rossi, R., 2009. Effect of dietary conjugated linoleic acid supplementation in sows on performance and immunoglobulin concentration in piglets. *J. Anim. Sci.* 87, 2299-2305.
- Corl, B.A., Mathews Oliver, S.A., Lin, X., Oliver, W.T., Ma, Y., Harrell, R.J., Odle, J., 2008. Conjugated linoleic acid reduces body fat accretion and lipogenic gene expression in neonatal pigs fed low- or high-fat formulas. *J. Nutr.* 138, 449-454.
- D'Souza, D.N., Mullan, B.P. 2002. The effect of genotype, sex and management strategy on the eating quality of pork. *Meat Sci.* 60, 95-101.
- Daza, A., Rey, A.I., Menoyo, D., Bautista, J.M., Olivares, A., López-Bote, C.J. 2007. Effect of level of feed restriction during growth and/or fattening on fatty acid composition and lipogenic enzyme activity in heavy pigs. *Anim. Feed Sci. Tech.* 138, 61-74.
- de Veth, M.J., Griinari, J.M., Pfeiffer, A.M., Bauman, D.E., 2004. Effect of CLA on milk fat synthesis in dairy cows: Comparison of inhibition by methyl esters and free fatty acids and relationships among studies. *Lipids* 39, 365–372.
- Demaree, S.R., Gilbert, C.D., Mesmann, H.J., Simth, S.B. 2002. Conjugated linoleic acid differentially modifies fatty acid composition in subcellular fractions of muscle and adipose tissue but not adiposity of postweaning pigs. *J. Nutr.* 132, 2372-2379.

- Dugan, M.E.R, Aalhus, J.L., Kramer, J.K.G. 2004. Conjugated linoleic acid pork research. *Anim. J. Clinic. Nutr.* 79, 1212S-1216S.
- Dugan, M.E.R, Aalhus, J.L., Schaefer, A.L., Kramer, J.K.G. 1997. The effect of conjugated linoleic acid on fat to lean repartitioning and feed conversion in pigs. *Can. J. Anim. Sci.* 77, 723-725.
- Dugan, M.E.R., Aalhus, J.L., Jeremiah, L.E., Kramer, J.K.G., Schaefer, A.L. 1999. The effects of feeding conjugated linoleic acid on subsequent pork quality. *Can. J. Anim. Sci.* 45-51.
- Eggert, J.M., Belury, M.A., Kempa-Steczko, A., Mills, S.E., Schinckel, A.P. 2001. Effects of conjugated linoleic acid on the belly firmness and fatty acid composition of genetically lean pigs *J. Anim. Sci.* 79, 2866-2872.
- Gatlin, L.A., See, M.T., Larick, D.K., Lin X, Odle J. 2002. Conjugated linoleic acid in combination with supplemental dietary fat alters pork fat quality. *J. Nutr.* 132, 3105-3112.
- Harrell, R.S., Phillips, O., Jerome, D.L., Boyd, R.D., Dwyer, D.A., Bauman, D.E., 2000. Effects of conjugated linoleic acid on milk composition and baby pig growth in lactating sows. *J. Anim. Sci.* 78, (suppl. 1), 137-138.
- Joo, S.T., Lee, J.I., Ha, Y.L., Park, G.B. 2002. Effects of dietary conjugated linoleic acid on fatty acid composition, lipid oxidation, color and water-holding capacity of pork loin. *J. Anim. Sci.* 80, 108-112.
- Jose, A.A.F.B.V., M.A.S. Gama, D.D.P. Lanna., 2008. Effects of trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid on gene expression and lipid metabolism of adipose tissue of growing pigs. *Genet. Mol. Res.* 7, 284-294.
- Kramer, J.K.G., Sehat, N., Dugan, M.E.R., Mossoba, M.M., Yurawecz, M.P., Roach, J.A.G., Eulitz, K., Aalhus, J.L., Schaefer, A.L., Ku, Y., 1998. Distributions of conjugated linoleic acid (CLA) isomers in tissue lipid classes of pigs fed a commercial CLA mixture determined by gas chromatography and silver ion high-performance liquid chromatography. *Lipids* 33, 549-558.

- Larsen, S. T., Wiegand, B. R., Parrish, F. C., Jr., Swan, J. E., Sparks, J. C. 2009. Dietary conjugated linoleic acid changes belly and bacon quality from pigs fed varied lipid sources. *J. Anim. Sci.* 87, 285-295.
- Lauridsen, C., Mu, H., Henckel, P. 2005. Influence of dietary conjugated linoleic acid (CLA) and age at slaughtering on performance, slaughter- and meat quality, lipoproteins, and tissue deposition of CLA in barrows. *Meat Sci.* 69, 393-399.
- Lee, K.N., Pariza, M.W., Ntambi, J.M. 1998. Conjugated linoleic acid decreases hepatic stearyl-CoA desaturase mRNA expression. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 248, 817-821.
- Leskanich C.O., Noble R.C. 1999. The comparative roles of polyunsaturated fatty acids in pig neonatal development. *Br. J. Nutr.* 81, 87-106.
- Lo Fiego, D.P., Macchioni, P., Santoro, P., Pastorelli, G., Corino, C. 2005. Effect of dietary conjugated linoleic acid (CLA) supplementation on CLA isomers content and fatty acid composition of dry-cured Parma ham. *Meat Sci.* 70, 285-291.
- López-Bote C.J. 1998. Sustained utilization of the Iberian pig breed. *Meat Sci.* 49, S17-S27.
- Martín, D., Antequera, T., González, E., López-Bote, C.J., Ruíz, J. 2007. Changes in the Fatty Acid Profile of the Subcutaneous Fat of Swine throughout Fattening As Affected by Dietary Conjugated Linoleic Acid and Monounsaturated Fatty Acids. *J. Agric. Food Chem.* 55, 10820-10826.
- Migdal, W., Pasciak, P., Wojtysiak, D., Barowicz, T., Pieszka, M., Pietras, M., 2004. The effect of dietary CLA supplementation on meat and eating quality, and the histochemical profile of the m. longissimus dorsi from stress susceptible fatteners slaughtered at heavier weights. *Meat Sci.* 66, 863-870.
- Mourot, J., Kouba, M., Peiniau, P., 1995. Comparative study of in vitro lipogenesis in various adipose tissues in the growing domestic pig (*Sus domesticus*). *Comp. Biochem. Physiol.* B111, 379-384.

- O'Quinn, P.R., Nelssen, J.L., Goodband, R.D., Unruh, J.A., Woodworth, J.C., Smith, J.S., Tokach, M.D. 2000b. Effects of modified tall oil versus a commercial source of conjugated linoleic acid and increasing levels of modified tall oil on growth performance and carcass characteristics of growing-finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 78, 2359-2368.
- Ostrowska, E., Muralitharan, M., Cross, R.F., Bauman, D.E., Dunshea, F.R. 1999. Dietary conjugated linoleic acid increase lean tissue and decrease fat deposition in growing pigs. *J. Nutr.* 129, 2037-2043.
- Otten, N., Vontscharner, C., Lazary, S., Antczak, D.F., Gerber, H., 1993. DNA of bovine papillomavirus type-1 and type-2 in equine sarcoids-PCR detection and direct sequencing. *Arch. Virol.* 132, 121-131.
- Pariza, M.W., Park, Y., Cook, M.E. 2001. The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Prog. Lipid Res.* 40, 283-298.
- Park, Y., Albright, K.J., Liu, W., Cook, M.E., Pariza, M.W. 1995. Dietary conjugated linoleic acid (CLA) reduces body fat content and isomers of CLA are incorporated into phospholipid fraction. *IFT Book of Abstract* 183.
- Park, Y., Storkson, J.M., Ntambi, J.M., Cook, M.E., Sih, C.J., Pariza, M.W. 2000. Inhibition of hepatic stearyl-CoA desaturase activity by trans-10,cis-12 conjugated linoleic acid and its derivatives. *Biochim. Biophys. Acta* 1486, 285-292.
- Patterson, R., Connor, M.L., Krause, D.O., Nyachoti, C.M., 2008. Response of piglets weaned from sows fed diets supplemented with conjugated linoleic acid (CLA) to an *Escherichia coli* K88(+) oral challenge. *Animal* 2, 1303–1311
- Pettigrew, J.E., 1981. Supplemental dietary fat for periparturient sows: a review. *J. Anim. Sci.* 53, 107–117.
- Poulos, S.P., Azain, M.J., Hausman, G.J., 2004. Conjugated linoleic acid (CLA) during gestation and lactation does not alter sow performance or body weight gain and adiposity in progeny. *Anim. Res.* 53, 275-288.

- Ramsay, T.G., Evock-Clover, C.M., Steele, N.C., Azain, M.J. 2001. Dietary conjugated linoleic acid alters fatty acid composition of pig skeletal muscle and fat. *J. Anim. Sci.* 79, 2152-2161.
- Serrano, M.P., Valencia, D.G., Fuentetaja, A., Lazaro, R., Mateos, G.G. 2008. Effect of gender and castration of females and slaughter weight on performance and carcass and meat quality of Iberian pigs reared under intensive management systems. *Meat Sci.* 80, 1122-1128.
- Smith, S.B., Hively, T.S., Cortese, G.M., Han, J.J., Chung, K.Y., Casteñada, P., Gilbert, C.D., Adams, V.L., Mersmann, H.J. 2002. Conjugated linoleic acid depresses the $\Delta 9$ desaturase index and stearoyl coenzyme A desaturase enzyme activity in porcine subcutaneous adipose tissue. *J. Anim. Sci.* 80, 2110-2115.
- Thiel-Cooper, R.L., Parrish, F.C. Jr., Sparks, J.C., Wiegand, B.R., Ewan, R.C. 2001. Conjugated linoleic acid changes swine performance and carcass composition. *J. Anim. Sci.* 79, 1821-1828.
- Tischendorf, F., Schone, F., Kirchheim, U., Jahreis, G. 2002. Influence of a conjugated linoleic acid mixture on growth, organ weights, carcass traits and meat quality in growing pigs. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 86, 117-128.
- Wahle, K.W., Heys, S.D., Rotondo, D. 2004. Conjugated linoleic acids: are they beneficial or detrimental to health? *Prog. Lipid Res.* 43, 553-587.
- West, D.B., Delany, J.P., Camet, P.M., Blohm, F., Truett, A.A., Scimeca, J. 1998. Effects of conjugated linoleic acid on body fat and energy metabolism in the mouse. *Am. J. Physiol-Reg. I.* 275, R667-R672.
- Wiegand, B.R., Parrish, F.C., Swan, J.E., Larsen, S.T., Baas, T.J. 2001. Conjugated linoleic acid improves feed efficiency, decreases subcutaneous fat, and improves certain aspects of meat quality in stress-genotype pigs. *J. Anim. Sci.* 79, 2187-2195.
- Wiegand, B.R., Sparks, J.C., Parrish, F.C Jr., Zimmerman, D.R. 2002. Duration of feeding conjugated linoleic acid influences growth performance, carcass traits, and meat quality of finishing barrows. *J. Anim. Sci.* 80, 637-643.

9. Conclusiones

9. CONCLUSIONES

De los resultados expuestos en la presente tesis doctoral, se pueden extraer las siguientes conclusiones:

1.- El CLA incrementa la GIM de los cerdos de genotipo magro cuando se incluye en el pienso a concentraciones iguales o superiores al 1%. El CLA tiene efectos positivos sobre la calidad de la carne debido a que su incorporación en la alimentación de cerdos de cebo modifica tanto la composición de los lípidos de la grasa subcutánea como la del tejido intramuscular, produciendo un aumento de la concentración de AGS y una disminución de la de AGMI, pero la magnitud de respuesta es diferente para cada tejido.

2.- La acumulación del isómero *c9,t11*-CLA es mayor que la de *t10,c12*-CLA tanto en el tejido subcutáneo como en la grasa intramuscular. Existe una respuesta lineal en la acumulación de los isómeros en ambos tejidos respecto a la incorporación de CLA en la dieta.

3.- La inclusión de un 1% de CLA en el pienso no produce efectos sobre las características de la canal y el contenido de GIM en los cerdos de genotipo graso, aunque sí afecta al perfil de AG de la grasa subcutánea dorsal y de la GIM. La concentración de los isómeros de CLA en la grasa subcutánea y en la GIM son menores que en los cerdos de genotipo magro, lo que sugiere que es necesaria una mayor suplementación de CLA en el pienso para alcanzar los mismos niveles de incorporación tisular que presentan los genotipos mejorados en sus tejidos.

4.- La alimentación de las cerdas con un pienso enriquecido con CLA durante la última semana de la gestación y todo el periodo de lactación provoca un aumento de la concentración de CLA en el calostro y la leche, alterando además la composición de los AG. El pienso que incorpora CLA produce una mayor concentración de AGS y menor concentración de AGMI en todos los casos, pero sin modificar la concentración total de AGPI.

5.- La incorporación de CLA en el pienso de cerdas reproductoras disminuye la concentración de grasa de la leche, produce una menor pérdida de espesor de grasa dorsal durante el período de lactación y un mayor peso del lechón al destete, pero no se observaron otros efectos productivos en las cerdas o en los lechones destetados.

6.- Los piensos de las cerdas enriquecidos con CLA provocan una modificación de la composición de AG en los lechones destetados tanto en el tejido subcutáneo como en el hepático. Sin embargo, con independencia de la dieta de las cerdas, después de 35 días del destete la concentración de AG (incluidos los isómeros CLA) en la grasa subcutánea y el tejido hepático, depende casi exclusivamente del aporte de CLA en el pienso iniciador.

7.- La incorporación de CLA en la alimentación provoca una escasa modificación de la regulación enzimática tanto a los 28 como a los 63 días de vida, a excepción de una menor actividad de EM en los lechones que reciben una dieta enriquecida en CLA después del destete.

8.- A pesar de los distintos efectos positivos conseguidos mediante el aporte de CLA, es necesario ser prudente con la interpretación de los diferentes resultados observados y los encontrados en la bibliografía, ya que las condiciones y metodología de la investigación son muy diferentes (tipos de isómeros utilizados, concentración, edad de los animales experimentales, tipo genético, duración de la suplementación prácticas de manejo, etc.).

